

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(21) 202293421 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2023.02.17

(51) Int. Cl. A61P 25/00 (2006.01)
C07K 16/22 (2006.01)

(22) Дата подачи заявки
2021.06.22

(54) АНТИТЕЛА, КОТОРЫЕ СВЯЗЫВАЮТ TGF-АЛЬФА И ЭПИРЕГУЛИН, ДЛЯ ПРИМЕНЕНИЯ ПРИ ЛЕЧЕНИИ БОЛИ

(31) 63/044,455; 63/070,507

(32) 2020.06.26; 2020.08.26

(33) US

(86) PCT/US2021/038394

(87) WO 2021/262662 2021.12.30

(71) Заявитель:
ЭЛИ ЛИЛЛИ ЭНД КОМПАНИ (US)

(72) Изобретатель:
Чедид Марсио, Хоер Джозеф Дж. (US)

(74) Представитель:
Гизатуллина Е.М., Гизатуллин
Ш.Ф., Угрюмов В.М., Строкова О.В.,
Джермакян Р.В., Костюшенкова М.Ю.
(RU)

(57) Согласно настоящему изобретению предложено терапевтическое применение антител, которые связывают TGF-альфа человека и эпирегулин человека, при лечении хронической боли и, в частности, хронической боли при остеоартрите, хронической боли при диабетической нейропатии или хронической боли в пояснице.

A1

202293421

202293421

A1

АНТИТЕЛА, КОТОРЫЕ СВЯЗЫВАЮТ TGF-АЛЬФА И ЭПИРЕГУЛИН, ДЛЯ ПРИМЕНЕНИЯ ПРИ ЛЕЧЕНИИ БОЛИ

Настоящее изобретение относится к вариантам применения антител, которые связывают человеческий TGF-альфа и эпирегулин, при лечении хронической боли, включая ноцицептивную, нейропатическую и смешанную боль, и, в частности, при лечении хронической боли при остеоартрите (ОА) или хронической боли при диабетической периферической нейропатии (ДПНП) или хронической боли в пояснице.

Хроническую боль подразделяют на разные категории на основании механизма: ноцицептивную, нейропатическую и смешанную. Ноцицептивная боль вызывается раздражителями, которые потенциально или фактически вызывают поражение ненейронных тканей. Это активирует ноцицептивные рецепторы в периферической сенсорной системе. Боль при остеоартрите (ОА) является классическим примером соматической ноцицептивной боли. Нейропатическая боль вызывается поражениями или заболеванием центральной или периферической нервной системы, что приводит к неадекватной гиперчувствительности сенсорной нервной системы. Боль при диабетической периферической нейропатии (ДПНП) является классическим примером периферической нейропатической боли. Состояния, при которых наблюдаются признаки как ноцицептивной, так и нейропатической боли, такие как хроническая боль в пояснице, классифицируются как смешанная боль.

Хроническая боль является широко распространенным состоянием с огромным социальным влиянием. По оценкам в 2016 году 20,4% взрослого населения в Соединенных Штатах испытывали хроническую боль, определяемую как боль большую часть дней или каждый день за последние 6 месяцев по данным Национального опроса о состоянии здоровья. По оценкам 8% населения имели хроническую боль, которая ограничивала их жизнь или трудовую деятельность большую часть дней или каждый день за последние 6 месяцев. Как следствие хроническая боль является основной причиной расходов на здравоохранение, а ежегодные затраты на лечение хронической боли в Соединенных Штатах в 2010 году оценивались приблизительно в 635 миллиардов долларов. Несмотря на высокое бремя заболевания и социальное влияние, лечение хронической боли в настоящее время является неудовлетворительным. Немедикаментозная терапия по отдельности редко бывает достаточной для облегчения боли или функционального улучшения, а доступные виды медикаментозной терапии обеспечивают небольшую пользу и связаны со значительными рисками для безопасности. В настоящее время наиболее часто используемыми лекарственными средствами для

облегчения наиболее распространенных типов хронической боли являются ацетаминофен, нестероидные противовоспалительные препараты и опиоиды. Габапентиноиды, другие антиконвульсанты (такие как дивальпроат натрия, карбамазепин или ламотриджин) и некоторые антидепрессанты (такие как трициклические или дулоксетин) можно применять при некоторых определенных болевых расстройствах. Имеющийся в настоящее время фармакологический арсенал обычно демонстрирует низкий уровень эффективности, проблемы с переносимостью и/или вредные побочные эффекты. Опиоиды эффективны против острой боли, но они являются ограниченным вариантом лечения хронической боли из-за высокого риска злоупотребления и потенциально серьезных нежелательных реакций. Физическое, эмоциональное и финансовое влияние хронической боли на пациента и общество в сочетании с отсутствием эффективных и переносимых вариантов лечения делает это существенной неудовлетворенной медицинской потребностью.

Данные свидетельствуют о том, что путь EGFR участвует в патогенезе нейропатической боли (Kersten, C, Cameron MG, Laird B, Mjåland S. Epidermal growth factor receptor-inhibition (EGFR-I) in the treatment of neuropathic pain. *Br J Anaesth.* 2015;115(5):761-767). Однако нацеливание на рецептор антитела к EGFR или ингибиторов тирозинкиназы EGFR связано с высокой частотой нежелательных реакций со стороны желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) и кожи, что ограничивает их потенциальное применение у неонкологической популяции с хронической болью. Лиганды, которые связывают и активируют EGFR, включают эпирегулин (EREG), трансформирующий фактор роста α (TGF- α), эпидермальный фактор роста, гепарин-связывающий фактор роста, подобный эпидермальному, бетацеллюлин, амфирегулин и эпиген (Schneider MR, Wolf E. The epidermal growth factor receptor ligands at a glance. *J Cell Physiol.* 2009;218(3):460-466). Два из лигандов EGFR, TGF- α и эпирегулин, уникальны тем, что они не способны индуцировать разрушение рецептора и, таким образом, способствуют рециркуляции рецептора и постоянной активации пути EGFR (Roepstorff K, Grandal MV, Henriksen L, Knudsen SL, Lerdrup M, Grøvdal L, Willumsen BM, van Deurs B. Differential effects of EGFR ligands on endocytic sorting of the receptor. *Traffic.* 2009;10(8):1115-1127).

Антитело I представляет собой высокоаффинное гуманизированное моноклональное антитело на основе иммуноглобулина G4 (IgG4), которое связывается с ключевыми остатками в С-концевых областях человеческого TGF- α и эпирегулина, предотвращая их связывание с EGFR и его активацию, и Антитело I и способы получения указанного антитела, а также его составы раскрыты в WO 2012/138510 вместе со способами лечения диабетической нефропатии.

Остается неудовлетворенной потребность в альтернативных и/или улучшенных средствах лечения хронической боли, включая ноцицептивную, нейропатическую и смешанную боль, и, в частности, при лечении боли при остеоартрите (ОА) или боли при диабетической периферической нейропатии (ДПНП), или хронической боли в пояснице.

5 Кроме того, остается неудовлетворенной потребность в альтернативных и/или улучшенных средствах лечения хронической боли, включая ноцицептивную, нейропатическую и смешанную боль, и, в частности, при лечении боли при остеоартрите (ОА) или боли при диабетической периферической нейропатии (ДПНП), или хронической боли в пояснице для лечения резистентной к терапии боли, которая определяется в
10 настоящей заявке как боль, рефрактерная к двум или более предшествующим режимам монотерапии и/или двойной терапии.

Согласно настоящему изобретению предложены антитела против TGF-альфа и эпирегулина для лечения хронической боли, включая ноцицептивную, нейропатическую и смешанную боль, и, в частности, лечения хронической боли при остеоартрите (ОА) или
15 хронической боли при диабетической периферической нейропатии (ДПНП) или хронической боли в пояснице. Кроме того, согласно настоящему изобретению предложены антитела против TGF-альфа и эпирегулина для лечения хронической боли при остеоартрите (ОА) или хронической боли при диабетической периферической нейропатии (ДПНП), или хронической боли в пояснице, рефрактерной к двум или более
20 предшествующим режимам монотерапии и/или двойной терапии.

Согласно варианту реализации настоящего изобретения предложен способ лечения хронической боли у субъекта, нуждающегося в этом, включающий введение указанному субъекту терапевтически эффективного количества антитела, содержащего легкую цепь и тяжелую цепь, причем указанная легкая цепь содержит переменную область легкой цепи (LCVR) и тяжелая цепь содержит переменную область тяжелой цепи (HCVR), при этом
25 указанная LCVR содержит аминокислотные последовательности LCDR (определяющий комплементарность участок легкой цепи) 1, LCDR2 и LCDR3, и указанная HCVR содержит аминокислотные последовательности HCDR (определяющий комплементарность участок тяжелой цепи) 1, HCDR2 и HCDR3, при этом LCDR1
30 представляет собой SEQ ID NO: 4, LCDR2 представляет собой SEQ ID NO: 5, LCDR3 представляет собой SEQ ID NO: 6, HCDR1 представляет собой SEQ ID NO: 1, HCDR2 представляет собой SEQ ID NO: 2, и HCDR3 представляет собой SEQ ID NO: 3.

Согласно варианту реализации настоящего изобретения предложен способ лечения хронической боли при остеоартрите у субъекта, нуждающегося в этом, включающий

введение указанному субъекту терапевтически эффективного количества антитела, содержащего легкую цепь и тяжелую цепь, причем указанная легкая цепь содержит переменную область легкой цепи (LCVR) и указанная тяжелая цепь содержит переменную область тяжелой цепи (HCVR), при этом указанная LCVR содержит аминокислотные последовательности LCDR1, LCDR2 и LCDR3, и указанная HCVR содержит аминокислотные последовательности HCDR1, HCDR2 и HCDR3, при этом LCDR1 представляет собой SEQ ID NO: 4, LCDR2 представляет собой SEQ ID NO: 5, LCDR3 представляет собой SEQ ID NO: 6, HCDR1 представляет собой SEQ ID NO: 1, HCDR2 представляет собой SEQ ID NO: 2, и HCDR3 представляет собой SEQ ID NO: 3.

Согласно варианту реализации настоящего изобретения предложен способ лечения хронической боли при диабетической периферической нейропатии у субъекта, нуждающегося в этом, включающий введение указанному субъекту терапевтически эффективного количества антитела, содержащего легкую цепь и тяжелую цепь, причем указанная легкая цепь содержит переменную область легкой цепи (LCVR) и тяжелая цепь содержит переменную область тяжелой цепи (HCVR), при этом указанная LCVR содержит аминокислотные последовательности LCDR1, LCDR2 и LCDR3, и указанная HCVR содержит аминокислотные последовательности HCDR1, HCDR2 и HCDR3, при этом LCDR1 представляет собой SEQ ID NO: 4, LCDR2 представляет собой SEQ ID NO: 5, LCDR3 представляет собой SEQ ID NO: 6, HCDR1 представляет собой SEQ ID NO: 1, HCDR2 представляет собой SEQ ID NO: 2, и HCDR3 представляет собой SEQ ID NO: 3.

Согласно варианту реализации настоящего изобретения предложен способ лечения хронической боли в пояснице у субъекта, нуждающегося в этом, включающий введение указанному субъекту терапевтически эффективного количества антитела, содержащего легкую цепь и тяжелую цепь, причем указанная легкая цепь содержит переменную область легкой цепи (LCVR) и тяжелая цепь содержит переменную область тяжелой цепи (HCVR), при этом указанная LCVR содержит аминокислотные последовательности LCDR1, LCDR2 и LCDR3, и указанная HCVR содержит аминокислотные последовательности HCDR1, HCDR2 и HCDR3, при этом LCDR1 представляет собой SEQ ID NO: 4, LCDR2 представляет собой SEQ ID NO: 5, LCDR3 представляет собой SEQ ID NO: 6, HCDR1 представляет собой SEQ ID NO: 1, HCDR2 представляет собой SEQ ID NO: 2, и HCDR3 представляет собой SEQ ID NO: 3.

Согласно варианту реализации настоящего изобретения предложен способ в соответствии с любым из приведенных выше вариантов реализации, причем указанная

аминокислотная последовательность LCVР представляет собой SEQ ID NO: 9 или SEQ ID NO: 10.

Согласно варианту реализации настоящего изобретения предложен способ в соответствии с любым из приведенных выше вариантов реализации, причем указанная
5 аминокислотная последовательность HCVR представляет собой SEQ ID NO: 7.

Согласно варианту реализации настоящего изобретения предложен способ в соответствии с любым из приведенных выше вариантов реализации, причем указанная аминокислотная последовательность LCVР представляет собой SEQ ID NO: 9, и указанная аминокислотная последовательность HCVR представляет собой SEQ ID NO: 7.

10 Согласно варианту реализации настоящего изобретения предложен способ в соответствии с любым из приведенных выше вариантов реализации, причем указанная аминокислотная последовательность легкой цепи представляет собой SEQ ID NO: 13 или SEQ ID NO: 14.

Согласно варианту реализации настоящего изобретения предложен способ в
15 соответствии с любым из приведенных выше вариантов реализации, причем указанная аминокислотная последовательность тяжелой цепи представляет собой SEQ ID NO: 12.

Согласно варианту реализации настоящего изобретения предложен способ в соответствии с любым из приведенных выше вариантов реализации, включающий две легкие цепи, причем указанная аминокислотная последовательность каждой легкой цепи
20 представляет собой SEQ ID NO: 13, и две тяжелые цепи, причем указанная аминокислотная последовательность каждой тяжелой цепи представляет собой SEQ ID NO: 12.

Согласно варианту реализации настоящего изобретения предложен способ в соответствии с любым из приведенных выше вариантов реализации, включающий две
25 легкие цепи, причем указанная аминокислотная последовательность каждой легкой цепи представляет собой SEQ ID NO: 14, и две тяжелые цепи, причем указанная аминокислотная последовательность каждой тяжелой цепи представляет собой SEQ ID NO: 12.

Согласно варианту реализации настоящего изобретения предложен способ в
30 соответствии с любым из приведенных выше вариантов реализации, причем указанная доза антитела представляет собой начальную дозу 750 мг, за которой следует доза 500 мг каждые 2 недели до тех пор, пока пациент нуждается в лечении боли.

Согласно варианту реализации настоящего изобретения предложен способ в соответствии с любым из приведенных выше вариантов реализации, причем указанная хроническая боль рефрактерна к двум или более предшествующим режимам монотерапии и/или двойной терапии.

5 Согласно варианту реализации настоящего изобретения предложено антитело, содержащее легкую цепь и тяжелую цепь, причем указанная легкая цепь содержит
10 переменную область легкой цепи (LCVR), и указанная тяжелая цепь содержит переменную область тяжелой цепи (HCVR), при этом указанная LCVR содержит аминокислотные последовательности LCDR1, LCDR2 и LCDR3, и указанная HCVR
15 содержит аминокислотные последовательности HCDR1, HCDR2 и HCDR3, при этом LCDR1 представляет собой SEQ ID NO: 4, LCDR2 представляет собой SEQ ID NO: 5, LCDR3 представляет собой SEQ ID NO: 6, HCDR1 представляет собой SEQ ID NO: 1, HCDR2 представляет собой SEQ ID NO: 2, и HCDR3 представляет собой SEQ ID NO: 3, для применения при лечении хронической боли. Согласно варианту реализации
20 настоящего изобретения дополнительно предложено применение, описанное выше, причем указанная хроническая боль выбрана из группы, состоящей из хронической боли при остеоартрите, хронической боли при диабетической нейропатии и хронической боли в пояснице. Согласно варианту реализации настоящего изобретения дополнительно предложено применение, описанное выше, причем указанная аминокислотная
25 последовательность LCVR представляет собой SEQ ID NO: 9 или SEQ ID NO: 10. Согласно варианту реализации настоящего изобретения дополнительно предложено применение, описанное выше, причем указанная аминокислотная последовательность HCVR представляет собой SEQ ID NO: 7. Согласно варианту реализации настоящего изобретения дополнительно предложено применение, описанное выше, причем указанная аминокислотная последовательность LCVR представляет собой SEQ ID NO: 9, и
30 указанная аминокислотная последовательность HCVR представляет собой SEQ ID NO: 7. Согласно варианту реализации настоящего изобретения дополнительно предложено применение, описанное выше, причем указанная аминокислотная последовательность легкой цепи представляет собой SEQ ID NO: 13 или SEQ ID NO: 14. Согласно варианту
35 реализации настоящего изобретения дополнительно предложено применение, описанное выше, причем указанная аминокислотная последовательность тяжелой цепи представляет собой SEQ ID NO: 12. Согласно варианту реализации настоящего изобретения дополнительно предложено применение, описанное выше, включающее две легкие цепи, причем указанная аминокислотная последовательность каждой легкой цепи представляет собой SEQ ID NO: 13, и две тяжелые цепи, причем указанная аминокислотная

последовательность каждой тяжелой цепи представляет собой SEQ ID NO: 12. Согласно варианту реализации настоящего изобретения дополнительно предложено применение, описанное выше, включающее две легкие цепи, причем указанная аминокислотная последовательность каждой легкой цепи представляет собой SEQ ID NO: 14, и две
5 тяжелые цепи, причем указанная аминокислотная последовательность каждой тяжелой цепи представляет собой SEQ ID NO: 12. Согласно варианту реализации настоящего изобретения дополнительно предложено применение, описанное выше, причем указанная хроническая боль представляет собой хроническую боль при остеоартрите. Согласно варианту реализации настоящего изобретения дополнительно предложено применение,
10 описанное выше, причем указанная хроническая боль представляет собой хроническую боль при диабетической периферической нейропатии. Согласно варианту реализации настоящего изобретения дополнительно предложено применение, описанное выше, причем указанная хроническая боль представляет собой хроническую боль в пояснице. Согласно варианту реализации настоящего изобретения дополнительно предложено
15 применение, описанное выше, причем указанная доза антитела представляет собой начальную дозу 750 мг, за которой следует доза 500 мг каждые 2 недели до тех пор, пока пациент нуждается в лечении боли. Согласно варианту реализации настоящего изобретения дополнительно предложено применение, описанное выше, причем указанная хроническая боль рефрактерна к двум или более предшествующим режимам монотерапии
20 и/или двойной терапии. Согласно варианту реализации настоящего изобретения предложено применение антитела в соответствии с приведенными выше вариантами реализации для изготовления лекарственного средства для лечения хронической боли. Согласно варианту реализации настоящего изобретения предложено применение антитела в соответствии с приведенными выше вариантами реализации для изготовления
25 лекарственного средства для лечения хронической боли, причем указанная хроническая боль выбрана из хронической боли при остеоартрите, хронической боли при диабетической нейропатии и хронической боли в пояснице.

Краткое описание графических материалов:

Фигура 1. Эффективность в отношении боли Антитела III в модели разрыва мениска на
30 крысах. Данные представлены как среднее значение $\pm$ стандартная ошибка среднего (COC), где размер группы составляет $n = 6$. Статистические сравнения: ANOVA и критерий Даннета для сравнения с контрольным IgG1 (* $p < 0,001$) и критерий Тьюки для сравнения 1 и 10 мг/кг Антитела III (* $p < 0,05$). Сокращения: ANOVA = дисперсионный анализ; IgG1 = иммуноглобулин G1; COC = стандартная ошибка среднего.

Фигура 2. Обзор 26-недельного рандомизированного двойного слепого плацебо-контролируемого исследования фазы 2, в котором Антитело I будет сравниваться с плацебо.

В настоящей заявке хроническая боль относится к боли, которая сохраняется более 5 суток, или к боли, которая повторяется несколько раз в месяц. Хроническая боль при остеоартрите, хроническая боль при диабетической нейропатии и хроническая боль в пояснице, а также идентификация пациентов, страдающих от этих состояний, могут быть определены способами, известными специалисту в данной области техники, с использованием установленных критериев, включая критерии, описанные в настоящей заявке. В настоящей заявке пациент представляет собой человека, у которого 10 диагностировано состояние или расстройство, требующее лечения антителом, описанным в настоящей заявке. В тех случаях, когда расстройства, которые можно лечить способами согласно настоящему изобретению, известны в соответствии с установленными и общепринятыми классификациями, такие как боль при остеоартрите, диабетическая 15 нейропатическая боль или боль в пояснице, их классификации можно найти в различных источниках, и Международная классификация болезней десятого пересмотра (МКБ-10) представляет классификации расстройств, описанных в настоящей заявке. Специалист в данной области техники поймет, что существуют альтернативные номенклатуры, нозологии и системы классификации расстройств, описанных в настоящей заявке, 20 включая те, которые описаны в DSM-IV и МКБ-10, и что терминология и системы классификации развиваются вместе с медицинским научным прогрессом.

В настоящей заявке боль при остеоартрите явным образом включает некорешковую (не нейропатическую боль). В настоящей заявке нейропатическая боль явным образом включает корешковую боль при хронической боли в пояснице (CLBP), 25 диабетической нейропатии (ДНП) и поясничной сегментарной ригидности (LSR). Согласно вариантам реализации боль представляет собой хроническую боль, такую как, например, хроническая боль как скелетно-мышечного, так и нейропатического происхождения, которую лечат способами согласно настоящему изобретению. Согласно другим вариантам реализации боль, которую лечат способами согласно настоящему 30 изобретению, представляет собой висцеральную боль (такую как, например, хронический простатит, интерстициальный цистит (боль в мочевом пузыре) или хроническая тазовая боль).

Согласно другим вариантам реализации предложен способ лечения боли ноцицептивной/воспалительной, нейропатической, ноципластической или смешанной

этиологии. Согласно другим вариантам реализации боль представляет собой хроническую боль скелетно-мышечного или нейропатического происхождения. Другие типы боли, которую лечат способами согласно настоящему изобретению, включают постоперационную боль, боль при ревматоидном артрите, нейропатическую боль и боль при остеоартрите.

Примерные типы боли включают нейропатическую боль, например, болезненную диабетическую нейропатию, индуцированную химиотерапией периферическую нейропатию, боль в пояснице, невралгию тройничного нерва, постгерпетическую невралгию, ишиас и комплексный региональный болевой синдром; воспалительную боль, например, при ревматоидном артрите, остеоартрите, височно-нижнечелюстном расстройстве; PDN или CIPN; висцеральную боль, например, при панкреатите, воспалительном заболевании кишечника, колите, болезни Крона, эндометриозе, тазовой боли и стенокардии; боль, выбранную из группы, включающей: боль при раке, боль при ожоге, боль в полости рта, боль, индуцированную переломом и поражением, боль при разрезе, боль в костях, боль при серповидноклеточной анемии, фибромиалгию и скелетно-мышечную боль; или боль при гипералгезии или аллодинии.

Боль, определенная в настоящей заявке, явным образом включает хроническую боль как скелетно-мышечного, так и нейропатического происхождения. «Постоперационная боль» (взаимозаменяемо называемая «постинцизионная» или «посттравматическая боль») относится к боли, вызванной или возникающей в результате внешней травмы, такой как порез, прокол, разрез, разрыв или рана в ткани индивидуума (включая боль, которая вызвана всеми хирургическими процедурами, будь то инвазивными или неинвазивными). В настоящей заявке постоперационная боль не включает боль, которая возникает (вызвана или происходит) без внешней физической травмы. Согласно некоторым вариантам реализации постоперационная боль представляет собой внутреннюю или внешнюю (включая периферическую) боль, и рана, порез, травма, разрыв или разрез могут возникать случайно (как при травматической ране) или преднамеренно (как при хирургическом разрезе). В настоящей заявке «боль» включает ноцицепцию и ощущение боли, и боль можно оценивать объективно и субъективно с использованием оценок боли и других способов, хорошо известных в данной области техники. Постоперационная боль в контексте настоящей заявки включает аллодинию (т. е. повышенный ответ на обычно безвредный раздражитель) и гипералгезию (т. е. повышенный ответ на обычно вредный или неприятный раздражитель), которые, в свою очередь, могут быть термическими или механическими (тактильными) по характеру.

Согласно некоторым вариантам реализации боль характеризуется температурной чувствительностью, механической чувствительностью и/или болью в покое. Согласно некоторым вариантам реализации постоперационная боль включает боль, индуцированную механическим воздействием, или боль в покое. Согласно другим вариантам реализации постоперационная боль включает боль в покое. Боль может представлять собой первичную или вторичную боль, как хорошо известно в данной области техники.

Термины «пациент», «субъект» и «индивидуум» относятся к человеку и используются в настоящей заявке взаимозаменяемо. Согласно определенным вариантам реализации пациент дополнительно характеризуется заболеванием, расстройством или состоянием (например, болью), при котором будет польза от ингибирования TGF-альфа и эпирегулина.

Термин «осуществлять лечение» (или «лечить», или «лечение») означает замедление, прекращение, уменьшение или обращение вспять прогрессирования или тяжести симптома, расстройства, состояния или заболевания.

Эффективное количество может быть определено специалистом в данной области техники с использованием известных методик и изучения результатов, полученных при аналогичных обстоятельствах. При определении эффективного количества для пациента учитывается ряд факторов, включая, но не ограничиваясь ими: биологический вид пациента; его размер, возраст и общее состояние здоровья; конкретное вовлеченное заболевание или расстройство; степень вовлеченности или тяжесть заболевания или расстройства; ответ отдельного пациента; конкретное вводимое соединение; способ введения; характеристики биодоступности вводимого препарата; выбранный режим дозирования; применение сопутствующих лекарственных средств; и другие имеющие отношение обстоятельства.

Термин «терапевтически эффективное количество» относится к количеству или дозе антитела согласно настоящему изобретению, которое, при введении однократной дозы или многократных доз пациенту, обеспечивает целевое лечение. Эффективное количество согласно некоторым вариантам реализации обеспечивает клинически значимое уменьшение боли. Еженедельная доза, доза раз в две недели, ежемесячная или ежеквартальная доза для парентерального введения (включая, но не ограничиваясь перечисленными, подкожное, внутримышечное и/или внутривенное) может составлять от приблизительно 0,5 мг/кг до приблизительно 50 мг/кг.

Еженедельная доза, доза раз в две недели, ежемесячная или ежеквартальная доза для парентерального введения (включая, но не ограничиваясь перечисленными, подкожное, внутримышечное и/или внутривенное) может составлять от приблизительно 0,5 мг/кг до приблизительно 10 мг/кг, от приблизительно 1 мг/кг до приблизительно 10 мг/кг, от приблизительно 2 мг/кг до приблизительно 10 мг/кг, от приблизительно 3 мг/кг до приблизительно 10 мг/кг, от приблизительно 4 мг/кг до приблизительно 10 мг/кг, от приблизительно 5 мг/кг до приблизительно 10 мг/кг, от приблизительно 6 мг/кг до приблизительно 10 мг/кг, от приблизительно 7 мг/кг до приблизительно 10 мг/кг, от приблизительно 8 мг/кг до приблизительно 10 мг/кг, от приблизительно 1 мг/кг до приблизительно 8 мг/кг, от приблизительно 2 мг/кг до приблизительно 8 мг/кг, от приблизительно 3 мг/кг до приблизительно 8 мг/кг, от приблизительно 4 мг/кг до приблизительно 8 мг/кг, от приблизительно 5 мг/кг до приблизительно 8 мг/кг, от приблизительно 6 мг/кг до приблизительно 8 мг/кг, от приблизительно 1 мг/кг до приблизительно 6 мг/кг, от приблизительно 2 мг/кг до приблизительно 6 мг/кг, от приблизительно 3 мг/кг до приблизительно 6 мг/кг, от приблизительно 4 мг/кг до приблизительно 6 мг/кг, от приблизительно 5 мг/кг до приблизительно 6 мг/кг, от приблизительно 1 мг/кг до приблизительно 5 мг/кг, от приблизительно 2 мг/кг до приблизительно 5 мг/кг, от приблизительно 3 мг/кг до приблизительно 5 мг/кг, от приблизительно 4 мг/кг до приблизительно 5 мг/кг, от приблизительно 1 мг/кг до приблизительно 4 мг/кг, от приблизительно 2 мг/кг до приблизительно 4 мг/кг, от приблизительно 3 мг/кг до приблизительно 4 мг/кг, от приблизительно 3,5 мг/кг до приблизительно 5 мг/кг или от приблизительно 4 мг/кг до приблизительно 5 мг/кг.

Еженедельная доза, доза раз в две недели, ежемесячная или ежеквартальная доза для парентерального введения (включая, но не ограничиваясь перечисленными, подкожное, внутримышечное и/или внутривенное) может составлять, например, от 25 приблизительно 50 мг до приблизительно 500 мг, от приблизительно 75 мг до приблизительно 500 мг, от приблизительно 100 мг до приблизительно 500 мг, от приблизительно 125 мг до приблизительно 500 мг, от приблизительно 250 мг до приблизительно 500 мг, от приблизительно 300 мг до приблизительно 500 мг, от 30 приблизительно 350 мг до приблизительно 500 мг, от приблизительно 400 мг до приблизительно 500 мг, от приблизительно 450 мг до приблизительно 500 мг, от приблизительно 50 мг до приблизительно 400 мг, от приблизительно 75 мг до приблизительно 400 мг, от приблизительно 100 мг до приблизительно 400 мг, от приблизительно 125 мг до приблизительно 400 мг, от приблизительно 250 мг до 35 приблизительно 400 мг, от приблизительно 300 мг до приблизительно 400 мг, от

приблизительно 350 мг до приблизительно 400 мг, от приблизительно 50 мг до
приблизительно 300 мг, от приблизительно 75 мг до приблизительно 300 мг, от
приблизительно 100 мг до приблизительно 300 мг, от приблизительно 125 мг до
приблизительно 300 мг, от приблизительно 150 мг до приблизительно 300 мг, от
5 приблизительно 175 мг до приблизительно 300 мг, от приблизительно 200 мг до
приблизительно 300 мг, от приблизительно 250 мг до приблизительно 300 мг, от
приблизительно 50 мг до приблизительно 250 мг, от приблизительно 75 мг до
приблизительно 250 мг, от приблизительно 100 мг до приблизительно 250 мг, от
приблизительно 125 мг до приблизительно 250 мг, от приблизительно 150 мг до
10 приблизительно 250 мг, от приблизительно 175 мг до приблизительно 250 мг, от
приблизительно 200 мг до приблизительно 250 мг, от приблизительно 75 мг до
приблизительно 250 мг, от приблизительно 50 мг до приблизительно 200 мг, от
приблизительно 75 мг до приблизительно 200 мг, от приблизительно 100 мг до
приблизительно 200 мг, от приблизительно 125 мг до приблизительно 200 мг, от
15 приблизительно 150 мг до приблизительно 200 мг, от приблизительно 175 мг до
приблизительно 200 мг, от приблизительно 50 мг до приблизительно 175 мг, от
приблизительно 75 мг до приблизительно 175 мг, от приблизительно 100 мг до
приблизительно 175 мг, от приблизительно 125 мг до приблизительно 175 мг или от
приблизительно 150 мг до приблизительно 175 мг.

20 Однако также предусмотрены дозы ниже или выше доз, упомянутых в настоящей
заявке, в частности, с учетом соображений по дозировке, известных специалистам в
данной области техники и/или описанных в настоящей заявке. Прогресс у пациента,
получающего лечение, можно контролировать путем периодической оценки и при
необходимости корректировать дозу.

25 Антитела, применяемые в способах согласно настоящему изобретению, связывают
TGF-альфа и эпирегулин и содержат легкую цепь и тяжелую цепь, причем указанная
легкая цепь содержит переменную область легкой цепи (LCVR), и указанная тяжелая
цепь содержит переменную область тяжелой цепи (HCVR), при этом указанная LCVR
содержит аминокислотные последовательности LCDR1, LCDR2 и LCDR3, и указанная
30 HCVR содержит аминокислотные последовательности HCDR1, HCDR2 и HCDR3, при
этом LCDR1 представляет собой SEQ ID NO: 4, LCDR2 представляет собой SEQ ID NO: 5,
LCDR3 представляет собой SEQ ID NO: 6, HCDR1 представляет собой SEQ ID NO: 1,
HCDR2 представляет собой SEQ ID NO: 2, и HCDR3 представляет собой SEQ ID NO: 3.

Кроме того, антитела, применяемые в способах согласно настоящему изобретению, связывают TGF-альфа и эпирегулин и содержат легкую цепь и тяжелую цепь, причем указанная легкая цепь содержит вариабельную область легкой цепи (LCVR), и указанная тяжелая цепь содержит вариабельную область тяжелой цепи (HCVR), при этом указанная аминокислотная последовательность LCVR представляет собой SEQ ID NO: 9 или SEQ ID NO: 10.

Антитела, применяемые в способах согласно настоящему изобретению, связывают TGF-альфа и эпирегулин и содержат легкую цепь и тяжелую цепь, причем указанная легкая цепь содержит вариабельную область легкой цепи (LCVR), и указанная тяжелая цепь содержит вариабельную область тяжелой цепи (HCVR), при этом указанная аминокислотная последовательность HCVR представляет собой SEQ ID NO: 7.

Антитела, применяемые в способах согласно настоящему изобретению, связывают TGF-альфа и эпирегулин и содержат легкую цепь и тяжелую цепь, причем указанная легкая цепь содержит вариабельную область легкой цепи (LCVR), и указанная тяжелая цепь содержит вариабельную область тяжелой цепи (HCVR), при этом аминокислотная последовательность LCVR и аминокислотная последовательность HCVR выбраны из группы, состоящей из:

(7) LCVR, имеющей SEQ ID NO: 9, и HCVR, имеющей SEQ ID NO: 7; и

(ii) LCVR, имеющей SEQ ID NO: 10, и HCVR, имеющей SEQ ID NO: 7.

Антитела, применяемые в способах согласно настоящему изобретению, связывают TGF-альфа и эпирегулин и содержат легкую цепь и тяжелую цепь, причем указанная легкая цепь содержит вариабельную область легкой цепи (LCVR), и указанная тяжелая цепь содержит вариабельную область тяжелой цепи (HCVR), при этом указанная аминокислотная последовательность LCVR представляет собой SEQ ID NO: 9, и указанная аминокислотная последовательность HCVR представляет собой SEQ ID NO: 7.

Антитела, применяемые в способах согласно настоящему изобретению, связывают TGF-альфа и эпирегулин и содержат легкую цепь и тяжелую цепь, причем указанная легкая цепь содержит вариабельную область легкой цепи (LCVR), и указанная тяжелая цепь содержит вариабельную область тяжелой цепи (HCVR), при этом указанная аминокислотная последовательность LCVR представляет собой SEQ ID NO: 10, и указанная аминокислотная последовательность HCVR представляет собой SEQ ID NO: 7.

Антитела, применяемые в способах согласно настоящему изобретению, связывают TGF-альфа и эпирегулин и содержат легкую цепь и тяжелую цепь, причем указанная

аминокислотная последовательность легкой цепи представляет собой SEQ ID NO: 13 или SEQ ID NO: 14.

Антитела, применяемые в способах согласно настоящему изобретению, связывают TGF-альфа и эпирегулин и содержат легкую цепь и тяжелую цепь, причем указанная
5 аминокислотная последовательность тяжелой цепи представляет собой SEQ ID NO: 12.

Антитела, применяемые в способах согласно настоящему изобретению, связывают TGF-альфа и эпирегулин и содержат легкую цепь и тяжелую цепь, причем аминокислотная последовательность указанной тяжелой цепи и аминокислотная последовательность указанной легкой цепи выбрана из группы, состоящей из:

- 10 (i) тяжелой цепи, имеющей SEQ ID NO: 12, и легкой цепи, имеющей SEQ ID NO: 13, и
- (ii) тяжелой цепи, имеющей SEQ ID NO: 12, и легкой цепи, имеющей SEQ ID NO: 14.

Антитела, применяемые в способах согласно настоящему изобретению, связывают
15 TGF-альфа и эпирегулин и содержат две легкие цепи, причем указанная аминокислотная последовательность каждой легкой цепи представляет собой SEQ ID NO: 13, и две тяжелые цепи, причем указанная аминокислотная последовательность каждой тяжелой цепи представляет собой SEQ ID NO: 12.

Антитела, применяемые в способах согласно настоящему изобретению, связывают
20 TGF-альфа и эпирегулин и содержат две легкие цепи, причем указанная аминокислотная последовательность каждой легкой цепи представляет собой SEQ ID NO: 14, и две тяжелые цепи, причем указанная аминокислотная последовательность каждой тяжелой цепи представляет собой SEQ ID NO: 12.

Антитела, применяемые в способах согласно настоящему изобретению, связывают
25 TGF-альфа и эпирегулин и включают фармацевтические композиции, содержащие антитело, описанное в настоящей заявке, и по меньшей мере один фармацевтически приемлемый носитель, разбавитель или вспомогательное вещество.

Антитела, применяемые в способах согласно настоящему изобретению, могут содержать фармацевтическую композицию, содержащую антитело, описанное в
30 настоящей заявке, вместе по меньшей мере с одним фармацевтически приемлемым носителем, разбавителем или вспомогательным веществом и необязательно другими терапевтическими ингредиентами.

Согласно настоящему изобретению также предложен способ лечения хронической боли у пациента, включающий введение указанному пациенту антитела согласно настоящему изобретению, описанного в настоящей заявке, в отдельной, одновременной или последовательной комбинации со стандартным лечением.

5 Кроме того, согласно настоящему изобретению предложены способы применения антитела, описанного в настоящей заявке, для применения в терапии, причем указанное антитело должно быть введено в одновременной или последовательной комбинации со стандартным лечением. Предпочтительно согласно настоящему изобретению предложены
10 способы применения антитела, описанного в настоящей заявке, для применения при лечении хронической боли, причем указанное антитело должно быть введено в одновременной или последовательной комбинации со стандартным лечением.

Общая структура «антитела» очень хорошо известна в данной области техники. Антитело типа IgG имеет четыре аминокислотные цепи (две «тяжелые» цепи и две «легкие» цепи), которые перекрестно связаны внутри- и межцепочечными
15 дисульфидными связями. При экспрессии в определенных биологических системах антитела, имеющие немодифицированные последовательности Fc человека, гликозилируются в области Fc. Антитела также могут быть гликозилированы в других положениях. Субъединичные структуры и трехмерные конфигурации антител хорошо известны в данной области техники. Каждая тяжелая цепь состоит из N-концевой
20 вариабельной области тяжелой цепи («HCVR») и константной области тяжелой цепи («HCCR»). Константная область тяжелой цепи состоит из трех доменов (CH1, CH2 и CH3) для IgG, IgD и IgA; и 4 доменов (CH1, CH2, CH3 и CH4) для IgM и IgE. Каждая легкая цепь состоит из вариабельной области легкой цепи («LCVR») и константной области легкой цепи («LCCR»).

25 Вариабельные области каждой пары легкая/тяжелая цепь образуют сайт связывания антитела. Области HCVR и LCVR могут быть дополнительно подразделены на участки гипервариабельности, называемые определяющими комплементарность участками («CDR»), перемежающиеся с участками, которые являются более консервативными и называются каркасными участками («FR»). Каждая HCVR и LCVR
30 состоит из трех CDR и четырех FR, расположенных от аминоконца к карбоксиконцу в следующем порядке: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4. В данном случае 3 CDR тяжелой цепи называются «CDRH1, CDRH2 и CDRH3», и 3 CDR легкой цепи называются «CDRL1, CDRL2 и CDRL3». CDR содержат большую часть остатков, которые образуют специфичные взаимодействия с антигеном. Отнесение аминокислот к каждому домену

соответствует хорошо известным правилам [например, Kabat, «Sequences of Proteins of Immunological Interest», National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1991)].

Антитело, применяемое в настоящем изобретении, может иметь константную область тяжелой цепи, выбранную из любого из классов иммуноглобулинов (IgA, IgD, IgG, IgM и IgE). Кроме того, антитело, применяемое в настоящем изобретении, содержит часть Fc, полученную из области Fc IgG4 человека, из-за ее сниженной способности связывать факторы комплемента по сравнению с другими подтипами IgG.

Антитело может быть получено из одной копии или клона, включая, например, любой эукариотический, прокариотический или фаговый клон. Предпочтительно антитело, применяемое в настоящем изобретении, существует в гомогенной или по существу гомогенной популяции молекул антител. Полноразмерное антитело содержит полноразмерные или по существу полноразмерные константные области, включая область Fc. «Антигенсвязывающий фрагмент» такого антитела представляет собой любую укороченную форму полноразмерного антитела, которая содержит антигенсвязывающую часть и сохраняет антигенсвязывающую способность. Такие укороченные формы включают, например, фрагмент Fab, фрагмент Fab' или фрагмент F(ab')₂, который включает CDR или вариабельные области раскрытых антител. Кроме того, такие укороченные формы антител могут представлять собой одноцепочечный фрагмент Fv, который может быть получен путем соединения ДНК, кодирующей LCVR и HCVR, используя линкерную последовательность (См. Pluckthun, The Pharmacology of Monoclonal Antibodies, vol. 113, Rosenberg and Moore eds., Springer-Verlag, New York, pp 269-315, 1994). Термин «антитело» не включает такие фрагменты, если не указано иное. Антитело, применяемое в настоящем изобретении, может быть получено с использованием методик, хорошо известных в данной области техники, например, рекомбинантных технологий, технологий фагового дисплея, синтетических технологий или комбинаций таких технологий или других технологий, хорошо известных в данной области техники.

Антитело, применяемое в настоящем изобретении, представляет собой модифицированное антитело, которое было сконструировано для включения каркасов, шарнирных областей и константных областей человеческого происхождения, которые идентичны или по существу идентичны (по существу человеческие) каркасам и константным областям, полученным из геномных последовательностей человека. Полностью человеческие каркасы, шарнирные области и константные области представляют собой последовательности зародышевой линии человека, а также последовательности с встречающимися в природе соматическими мутациями и

последовательности со сконструированными мутациями. Антитело, применяемое в настоящем изобретении, может содержать каркас, шарнир или константные области, полученные из полностью человеческого каркаса, шарнира или константной области, содержащей одну или более аминокислотных замен, делеций или добавлений в ней.

- 5 Кроме того, антитело, применяемое в настоящем изобретении, является по существу неиммуногенным у людей.

Множество различных каркасных последовательностей человека можно использовать по отдельности или в комбинации в качестве основы для антитела, применяемого в настоящем изобретении. Предпочтительно каркасные участки антитела
10 согласно настоящему изобретению имеют человеческое происхождение или по существу человеческое происхождение (человеческого происхождения по меньшей мере на 95%, 97% или 99%). Последовательности каркасных участков человеческого происхождения можно получить из The Immunoglobulin Factsbook, за авторством Marie-Paule Lafranc, Gerard Lefranc, Academic Press 2001, ISBN 012441351.

15 Каркасная последовательность для антитела, применяемого в настоящем изобретении, служит в качестве «донорного» переменного каркасного участка и может быть использована для создания дополнительных антител с CDR, которые аналогичны указанным в настоящей заявке, с использованием методологии, известной в данной области техники. Кроме того, каркасную последовательность антитела, применяемого в
20 настоящем изобретении, можно сравнить с другими известными каркасными последовательностями человека для создания дополнительных антител. Таким образом, эту информацию можно использовать для «обратной мутации» другого выбранного гомологичного каркасного участка человека на донорный аминокислотный остаток в этих положениях. Кроме того, любые «редкие» аминокислоты можно детектировать в
25 дополнительных каркасах человека так, что консенсусный или донорный аминокислотный остаток можно использовать в соответствующем положении.

«TGF-альфа» или «TGF-альфа человека» относится к белку TGF-альфа человека (SEQ ID NO: 18).

«Эпирегулин» или «эпирегулин человека» относится к белку эпирегулина человека
30 (SEQ ID NO: 33). Met-эпирегулин человека (SEQ ID NO: 22) используется в экспериментах *in vitro* в настоящей заявке. Ссылки на способность антител, описанных в настоящей заявке, связывать или нейтрализовать эпирегулин человека относятся также к их способности связывать и нейтрализовать Met-эпирегулин человека в экспериментах *in vitro*.

Следующие примеры могут быть выполнены по существу так, как описано ниже.

ПРИМЕРЫ

Пример 1: Получение антител

Антитела I и II могут быть получены и очищены следующим образом. Подходящую клетку-хозяина, такую как НЕК 293 или CHO, либо временно, либо стабильно трансфицируют системой экспрессии для секреции антител с использованием оптимального заранее определенного соотношения векторов HC:LC или одной векторной системы, кодирующей как HC, такую как SEQ ID NO: 15, так и LC, такую как SEQ ID NO: 16 или SEQ ID NO: 17. Осветленную среду, в которую было секретировано антитело, очищают с использованием любой из многочисленных общепринятых методик. Например, среда может быть нанесена удобным образом на колонку с белком A или G, уравновешенную совместимым буфером, таким как фосфатно-солевой буферный раствор (ФСБ) (pH 7,4). Колонку промывают для удаления неспецифичных связывающих компонентов. Связанное антитело элюируют, например, с помощью градиента pH (например, от 0,1 М фосфатно-натриевого буфера с pH 6,8 до 0,1 М цитратно-натриевого буфера с pH 2,5). Фракции антитела детектируют, например, с помощью электрофореза в ДСН-ПААГ, и затем объединяют. Дополнительная очистка является необязательной и проводится в зависимости от предполагаемого применения. Антитело может быть сконцентрировано и/или стерильно профильтровано с использованием общепринятых методик. Растворимый агрегат и мультимеры могут быть эффективно удалены с помощью обычных методик, включая эксклюзионную, гидрофобного взаимодействия, ионообменную или гидроксиапатитную хроматографию. Чистота антитела после указанных этапов хроматографии составляет более 99%. Продукт может быть немедленно заморожен при -70°C или может быть лиофилизирован. Аминокислотные последовательности этих антител представлены ниже.

SEQ ID NO

Антитело	Тяжелая цепь	Легкая цепь	HCVR	LCVR
I	12	13	7	9
II	12	14	7	10
III	31	32	8	11

Антитело	HCDR1	HCDR2	HCDR3	LCDR1	LCDR2	LCDR3
I	1	2	3	4	5	6
II	1	2	3	4	5	6
III	1	2	3	4	5	6

Составы:

Лекарственный продукт Антитела I поставляется для применения в клинических исследованиях в виде лиофилизированного порошка в стеклянном флаконе. Содержимое флакона должно быть восстановлено/разведено стерильным 0,9% раствором хлорида натрия, Фармакопея США (USP). Лيوфилизированный лекарственный продукт Антитела I состоит из Антитела I и вспомогательных веществ: цитрата натрия, лимонной кислоты, полисорбата 80 и сахарозы. Флакон изготовлен для доставки 75 мг Антитела I. При восстановлении/разведении содержимого флакона 3,2 мл стерильного 0,9% хлорида натрия (USP) получается прозрачный раствор, состоящий из 25 мг/мл Антитела I при pH 6,0.

Пример 2: Измерение аффинного связывания с помощью поверхностного плазмонного резонанса (BIAcore) для Антитела I

Прибор Biacore T2000 (BIAcore® AB, Упсала, Швеция), реагенты и оценочное программное обеспечение Biacore T2000, версии 4.1, используют для анализа методом поверхностного плазмонного резонанса. Чип CM5 готовят с использованием способа связывания по аминокгруппе EDC/NHS производителя. Поверхности всех четырех проточных кювет активируют путем впрыскивания смеси 1:1 EDC/NHS в течение 7 минут при 10 мкл/мин. Козье антитело, специфичное в отношении Fcγ человека, разводят до 50 мкг/мл в 10 mM ацетатном буфере, pH 4,0, и иммобилизуют при приблизительно 10000 ед.ответа на всех четырех проточных кюветах посредством 7-минутного впрыскивания при скорости потока 10 мкл/мин. Непрореагировавшие сайты блокируют впрыскиванием этаноламина в течение 7 минут при 10 мкл/мин. Впрыскивания 3 раза по 20 секунд глицина, pH 1,5, при 30 мкл/мин используют для удаления нековалентно связанного белка. Рабочий буфер представляет собой HBS-EP [10 mM HEPES, 150 mM хлорида натрия, 3 mM ЭДТА, 0,005% полисорбата 20].

В исследовании 1 Антитело I разводят до 50 мкг/мл в рабочем буфере, и в проточной кювете 2 захватывают приблизительно 400-600 ед.ответа. TGF-альфа человека (SEQ ID NO: 18), TGF-альфа крысы (SEQ ID NO: 20), met-эпирегулин человека (SEQ ID

NO: 22) и эпирегулин яванской макаки (SEQ ID NO: 24) разводят от 100 мкг/мл до 200 нМ в рабочем буфере, а затем двукратно последовательно разводят в рабочем буфере до 6,25 нМ. Эпирегулин мыши (SEQ ID NO: 23) разводят от 100 мкг/мл до 4 мкМ в рабочем буфере, а затем дважды последовательно разводят в рабочем буфере до 125 нМ.

5 Повторные впрыскивания каждой концентрации лиганда впрыскивают при 30 мкл/мин в течение 300 секунд с последующей фазой диссоциации. Фаза диссоциации составляет 1800 секунд для TGF-альфа человека и крысы, 1200 секунд для эпирегулина человека и яванской макаки и 120 секунд для эпирегулина мыши. Регенерацию выполняют путем впрыскивания 10 мМ глицина, pH 1,5, 3 раза по 20 секунд при 30 мкл/мин над всеми
10 проточными кюветами.

В исследовании 2 Антитело III разводят до 100 мкг/мл в рабочем буфере, и в проточной кювете 2 захватывают приблизительно 400-600 ед. ответа. TGF-альфа мыши (SEQ ID NO: 19) разводят от 100 мкг/мл до 200 нМ в рабочем буфере, а затем дважды последовательно разводят в рабочем буфере до 6,25 нМ. Эпирегулин мыши (SEQ ID NO:
15 23) разводят от 100 мкг/мл до 4 мкМ в рабочем буфере, а затем дважды последовательно разводят в рабочем буфере до 125 нМ. Повторные впрыскивания каждой концентрации лиганда впрыскивают при 30 мкл/мин в течение 300 секунд с последующей фазой диссоциации. Фаза диссоциации составляет 1800 секунд для TGF-альфа мыши и 120 секунд для эпирегулина мыши. Регенерацию выполняют путем впрыскивания 10 мМ
20 глицина, pH 1,5, в течение 30 секунд при 30 мкл/мин над всеми проточными кюветами.

Данные, после вычета референсных значений, собирают как Fc2-Fc1. Измерения получают при 25°C. Скорость прямой реакции (k_{on}) и скорость обратной реакции (k_{off}) для каждого лиганда оценивают с использованием модели связывания «связывание 1:1 (Ленгмюра)». Аффинность (K_D) рассчитывают из кинетики связывания в соответствии с
25 уравнением: $K_D = k_{off}/k_{on}$.

Таблица 1
Параметры связывания для Антитела I

Лиганд	Вид	Скорость прямой реакции (k_{on}) ($M^{-1}s^{-1}$) ($\pm CO$)	Скорость обратной реакции (k_{off}) (s^{-1}) ($\pm CO$)	Аффинность (K_D^a) ($\pm CO$)
TGF-альфа	Человек	$4,18 \pm 0,28 \times 10^5$	$4,09 \pm 0,96 \times 10^{-5}$	$97,6 \pm 20,6$ пМ
	Крыса	$3,78 \pm 0,39 \times 10^5$	$2,66 \pm 0,74 \times 10^{-5}$	$70,5 \pm 19,4$ пМ
Эпирегулин	Человек	$4,91 \pm 0,42 \times 10^5$	$6,31 \pm 0,55 \times 10^{-4}$	$1,29 \pm 0,03$ нМ

	Яванская макака	$6,73 \pm 0,71 \times 10^5$	$7,05 \pm 0,23 \times 10^{-4}$	$1,05 \pm 0,09$ нМ
	Мышь	$4,10 \pm 1,15 \times 10^4$	$1,33 \pm 0,16 \times 10^{-2}$	342 ± 136 нМ
^a Рассчитано как $K_D = k_{off}/k_{on}$				

Таблица 2

Параметры связывания для Антитела III

Лиганд	Скорость прямой реакции (k_{on}) ($M^{-1}s^{-1}$) ($\pm CO$)	Скорость обратной реакции (k_{off}) (s^{-1}) ($\pm CO$)	Аффинность (K_D^a) ($\pm CO$)
TGF-альфа мыши	$5,41 \pm 0,50 \times 10^5$	$2,02 \pm 0,54 \times 10^{-5}$	$38,0 \pm 13,6$ пМ
Эпирегулин мыши	$6,55 \pm 0,38 \times 10^4$	$1,41 \pm 0,09 \times 10^{-2}$	215 ± 15 нМ
^a Рассчитано как $K_D = k_{off}/k_{on}$			

Таким образом, Антитело I специфично связывает TGF- α и эпирегулин и очень слабо связывается с эпигеном. Кажущуюся кинетику связывания и аффинность Антитела I в отношении TGF- α , эпирегулина и эпигена из различных видов измеряли с помощью

Трансформирующий фактор роста α , эпирегулин и эпиген из различных видов показали зависимый от концентрации ответ связывания с Антителом I, которое обладало высокой аффинностью в отношении TGF- α человека и крысы (K_d $97,6 \pm 20,6$ пМ и $70,5 \pm 19,4$ пМ при $25^\circ C$, соответственно). Кинетику связывания TGF- α яванской макаки и мыши отдельно не измеряли, поскольку она на 100% идентична TGF- α человека и крысы, соответственно. Кинетику связывания TGF- α кролика отдельно не измеряли, поскольку эпитоп Антитела I идентичен в TGF- α кролика и человека. Антитело I показало высокую аффинность в отношении эпирегулина человека и яванской макаки и аффинность в отношении эпирегулина мыши (K_d $1,29 \pm 0,03$ нМ, $1,05 \pm 0,09$ нМ и 342 ± 136 нМ при $25^\circ C$, соответственно). Кинетику связывания эпирегулина крысы отдельно не измеряли, так как эпитоп Антитела I идентичен в эпирегулине крысы и мыши. Антитело I показало очень низкую аффинность в отношении эпигена человека и мыши ($K_d > 2$ мкМ и 493 ± 205 нМ при $25^\circ C$, соответственно).

Поскольку Антитело I представляет собой гуманизированное моноклональное антитело, его использование для оценки фармакологии в моделях на животных ограничено из-за вероятности возникновения у животных иммунного ответа на соединение. Следовательно, мышинное моноклональное антитело, Антитело III, использовали для определения эффекта нейтрализации TGF- α и эпирегулина в модели боли при ОА на животных. Кинетику связывания Антитела III с мышинным TGF- α ,

эпирегулином и эпигеном также измеряли с помощью SPR. Антитело III показало высокую аффинность в отношении TGF- α и низкую аффинность в отношении эпирегулина и эпигена с соответствующими значениями K_d $38,0 \pm 13,6$ пМ, 215 ± 15 нМ и 365 ± 39 нМ при 25°C, соответственно.

5

Пример 3: Интернализация целевых лигандов EGF в линии клеток карциномы толстой кишки человека HT-29

Конъюгация Alexa Fluor® 488 с антителами

Alexa Fluor® 488 конъюгируют с Антителом I и контрольным IgG в соответствии с
10 протоколом производителя. Белок разводят до 2 мг/мл в ФСБ. К 0,5 мл этого 2 мг/мл раствора добавляют 50 мкл 1 М бикарбоната натрия с pH 9. Раствор белка затем переносят во флакон с красителем и перемешивают при комнатной температуре в течение 1 часа. Меченый белок очищают с использованием смолы Bio-Rad BioGel P-30, входящей в набор для мечения.

15 Анализ интернализации *in vitro*

В исследовании 1 10000 клеток HT-29, линии клеток аденокарциномы толстой кишки, которая, как известно, экспрессирует TGF-альфа и эпирегулин, высевают на лунку 96-луночного планшета и оставляют инкубироваться в течение ночи в полной среде. [Модифицированная Дульбекко среда Игла/среда F12 (Ham) (1:1) («DMEM/F12»),
20 содержащая L-глутамин, 10% инактивированной нагреванием фетальной бычьей сыворотки («ФБС»), 1х антибиотик и 2,438 г/л бикарбоната натрия]. На следующий день клетки промывают ФСБ, содержащим 0,1% БСА, а затем инкубируют с конъюгированным с Alexa Fluor® 488 Антителом I или контрольным IgG в ФСБ с 0,1% БСА в концентрациях в диапазоне от 0 до 88 мкг/мл в течение 2 часов при 37°C в инкубаторе для тканевых
25 культур. После периода инкубации клетки несколько раз промывают в ФСБ с 0,1% БСА, а затем фиксируют 4% формальдегидом для анализа. Количественную оценку интернализации проводят следующим образом: 500 клеток/лунку собирают с помощью Cellomics Arrayscan VTI (Thermo Scientific). Анализ изображений выполняют с помощью биоприложений системы «Компартментный анализ». Ядра клеток идентифицируют с
30 помощью окраски Hoechst (синий). Две области интереса (ROI) задают для сбора флуоресцентных сигналов от внутриклеточных пятен (красный) и общей зеленой флуоресценции (красный и синий), полученных из маскированного изображения. Рассчитывают число, площадь и интенсивность флуоресценции от каждого пятна и клетки. Для измерения индуцированной Антителом I интернализации выбрана средняя
35 общая интенсивность пятна для внутриклеточных пятен (красные).

В исследовании 2 10000 клеток HT-29 подготавливают, как описано ранее, и к клеткам добавляют конъюгированное с Alexa Fluor[®] 488 Антитело I или контрольный IgG в ФСБ, содержащем 0,1% БСА, при 40 мкг/мл. Клетки инкубируют при 37°C в инкубаторе для тканевых культур в течение различных периодов времени в диапазоне от 0 до 120 минут, затем несколько раз промывают ФСБ, содержащим 0,1% БСА, и фиксируют 4% формальдегидом для анализа. Количественное определение сигнала выполняют по существу, как описано ранее.

Таблица 3а

Исследование 1 – Средняя общая интенсивность флуоресценции круглого пятна

Доза (мкг/мл)	88	44	22	11	5,5
Контрольный IgG	2440 ± 199	1808 ± 207	1763 ± 68	1391 ± 76	1357 ± 63
Антитело I	24809 ± 4343	17451 ± 217	15135 ± 131	11516 ± 54	8474 ± 269
Среднее ± СОС					

10

Таблица 3b

Исследование 1 – Средняя общая интенсивность флуоресценции круглого пятна

Доза (мкг/мл)	2,75	1,38	0,69	0,34	0
Контрольный IgG	1570 ± 70	1473 ± 7	1483 ± 90	1407 ± 41	1630 ± 155
Антитело I	6503 ± 262	4349 ± 186	3440 ± 96	2432 ± 62	1460 ± 84
Среднее ± СОС					

- 5 Результаты анализа изображений исследования 1 показали, что флуоресцентный сигнал интернализовался в клетку и зависел от дозы Антитела I, но не контрольного IgG (Таблица 3a и Таблица 3b).

Таблица 4

Исследование 2 – Средняя общая интенсивность флуоресценции круглого пятна

Время после добавления (мин)	120	60	30	15	5	0
Контрольный IgG	177 ± 29	167 ± 23	124 ± 10	126 ± 18	116 ± 4	94 ± 11
Антитело I	4449 ± 866	4131 ± 1688	1494 ± 66	717 ± 72	261 ± 17	89 ± 1
Среднее ± СОС						

- 10 Результаты исследования 2 продемонстрировали, что Антитело I быстро интернализовалось, и интернализация завершалась через 2 часа после добавления к клеткам (Таблица 4). Антитело I индуцировало интернализацию мишени на клетках НТ-29 *in vitro* зависимым от времени образом (Таблица 4). Приведенные выше результаты
- 15 показывают, что Антитело I связывается с мембраносвязанными лигандами и способствует их интернализации в зависимости от дозы и времени с полной интернализацией Антитела I (и предположительно лиганда) в течение 2 часов инкубации при 37°C.

Пример 4: Измерение нейтрализации пролиферации клеток, стимулированной лигандом EGFR, в клеточной линии миофибробластов

Клональную клеточную линию миофибробластов мыши («MFC7») используют для исследования способности антител согласно настоящему изобретению блокировать пролиферативную активность лигандов EGFR. EGFR могут активировать семь лигандов: TGF-альфа (TGFA), эпирегулин (EREG), EGF, гепарин-связывающий EGF (HB-EGF), эпиген (EPGN), амфирегулин (AREG) и бетацеллюлин (BTC). Лиганды EGFR имеют общий структурный мотив, EGF-подобный домен, характеризующийся тремя внутримолекулярными дисульфидными связями, которые образованы шестью одинаково расположенными консервативными цистеиновыми остатками. Пролиферативную активность определяют по включению бромдезоксидуридина («BrDU») и измеряют с помощью колориметрического набора для ИФА BrDU в соответствии с инструкциями производителя.

Сначала 2000 клеток MFC7/лунку высевают в 96-луночный микропланшет, обработанный для выращивания тканевых культур, в 0,1 мл модифицированной Дульбекко среды Игла/среды F12 (Ham) (1:1) («DMEM/F12»), содержащей L-глутамин, 10% инактивированной нагреванием ФБС, 1х антибиотик и 2,438 г/л бикарбоната натрия. Клеткам позволяют прикрепиться в течение 6 часов, а затем среду удаляют и заменяют 0,1 мл бессывороточной DMEM/F12, содержащей 0,1% БСА, для культивирования при нехватке сыворотки в течение ночи. На следующий день выполняют последовательные разведения лигандов EGFR в бессывороточной среде, содержащей 0,1% БСА, в 96-луночных полипропиленовых планшетах в объеме 0,12 мл/лунку в диапазоне концентраций от 0,001 до 3000 нг/мл. После разведений среду удаляют от клеток, культивированных при недостатке сыворотки, и затем стимулируют лигандом EGFR в течение 24 часов. После стимуляции клетки импульсно обрабатывают BrDU в течение 4 часов, а затем анализируют с помощью набора для колориметрического ИФА BrDU в соответствии с инструкциями производителя.

При исследовании специфичности Антитела I в отношении лигандов EGFR в 96-луночных полипропиленовых планшетах готовят последовательные 2- или 3-кратные разведения антитела в объеме 0,06 мл/лунку при концентрациях в диапазоне от 3000 нМ до 0,059 нМ. После последовательных разведений антитела в каждую лунку добавляют 0,06 мл лиганда EGFR. Затем планшет инкубируют при 37°C в увлажненном инкубаторе для тканевых культур в течение 30 минут. После инкубации к клеткам переносят по 0,1 мл раствора на лунку. Клетки стимулируют в течение 24 часов. После стимуляции клетки импульсно обрабатывают BrDU в течение 4 часов, а затем анализируют с помощью

набора для колориметрического ИФА BgDU. Значения поглощения (450 нм – 690 нм) получают на считывающем устройстве для планшетов SpectraMax 190 (Molecular Devices) и анализируют данные.

Таблица 5
Анализ MFc7

Лиганд EGFR	Диапазон ЭК ₅₀ (пМ)	ИК ₅₀ (нМ) Антитело I	ИК ₅₀ (нМ) Антитело III
TGF-альфа человека ^a	11-12	0,46 ± 0,03	0,52 ± 0,04
Эпирегулин человека	78-282	3,15 ± 1,04	1,12 ± 0,36
Эпиген человека	3797-18987	807 ± 577	н/о ^b
EGF человека	0,3-2,4	>2000	н/о ^b
HBEGF человека	30-39	>2000	н/о ^b
Бетацеллюлин человека	1,8-3,2	>2000	н/о ^b
Амфирегулин человека	273-2727	>2000	н/о ^b
TGF-альфа крысы	13-13,8	0,19 ± 0,06	0,13 ± 0,01
Эпирегулин мыши	163-320	334 ± 41	214 ± 49
^a Концентрация лигандов EGFR человека составила 0,5 нМ при исследовании Антитела I, за исключением амфирегулина (60 нМ) и эпигена (100 нМ).			
TGF-альфа крысы и эпирегулин мыши использовали в концентрации 0,5 нМ.			
^b н/о - не определено			

Было обнаружено, что эпирегулин мыши и TGF-альфа крысы, а также все лиганды EGFR человека, за исключением эпигена и амфирегулина, являются мощными стимуляторами клеточной пролиферации в анализе (Таблица 5). Антитело I и Антитело III обладают высокой аффинностью в отношении активности TGF-альфа человека и крысы и эпирегулина человека (Таблица 5).

В Таблице 5 обобщены рассчитанные значения ЭК₅₀ для исследованных лигандов EGFR и абсолютные значения ИК₅₀ для антител к этим лигандам. Рассчитанное среднее значение ИК₅₀ для Антитела I составило 0,46 ± 0,03 нМ в отношении TGF-альфа человека и 3,15 ± 1,04 нМ в отношении эпирегулина человека. Рассчитанное среднее значение ИК₅₀ для Антитела III составило 0,52 ± 0,04 нМ в отношении TGF-альфа человека и 1,12 ± 0,36 нМ в отношении эпирегулина человека. Рассчитанное среднее значение ИК₅₀ для Антитела III составило 0,13 ± 0,01 нМ в отношении TGF-альфа крысы и 214 ± 49 нМ в отношении эпирегулина мыши. Таким образом, Антитело I и Антитело III обладают

высокой аффинностью и являются селективными с полной нейтрализующей активностью против TGF-альфа человека и эпирегулина человека.

Таким образом, лиганды рецептора эпидермального фактора роста являются мощными митогенными факторами для клеток многих линий, включая фибробластные клетки. Для определения нейтрализующей эффективности и специфичности Антитела I оценивали его влияние на пролиферацию миофибробластов *in vitro*. Отдельные рекомбинантные лиганды использовали для стимуляции пролиферации миофибробластов и для определения их относительной 50% эффективной концентрации (ЭК₅₀) для них. Затем в анализе оценивали субмаксимальные концентрации отдельных лигандов и различные концентрации Антитела I для количественной оценки ингибирующей активности для конкретных лигандов. Антитело I обладает мощной нейтрализующей активностью в отношении TGF-α человека, мыши, крысы и яванской макаки (значения 50% ингибирующей концентрации [ИК₅₀] <0,5 нМ) и в отношении эпирегулина человека и яванской макаки (значения ИК₅₀ <3,5 нМ). Антитело I обладает более слабой нейтрализующей активностью в отношении эпирегулина мыши и крысы (значения ИК₅₀ <350 нМ) и эпигена человека, яванской макаки и крысы (значения ИК₅₀ <850 нМ) и не имеет измеримой активности в отношении других исследованных лигандов EGFR (значения ИК₅₀ >2000 нМ).

Аналогичным образом оценивали нейтрализующую активность мышинового антитела, Антитела III, в анализе пролиферации миофибробластов. Антитело III также мощно ингибировало TGF-α человека и крысы и эпирегулин человека (значения ИК₅₀ 0,521 ± 0,037 нМ, 0,131 ± 0,012 нМ и 1,12 ± 0,36 нМ, соответственно) и активность в отношении эпирегулина мыши (значение ИК₅₀ 214 ± 49 нМ). Отсутствовала измеримая активность в отношении других исследованных лигандов EGFR мыши.

Таким образом, Антитело I представляет собой высокоаффинное гуманизированное моноклональное антитело на основе иммуноглобулина G4 (IgG4), которое связывается с ключевыми остатками в С-концевых областях человеческого TGF-α и эпирегулина, предотвращая их связывание с EGFR и его активацию. Взаимодействие Антитела I приводит к интернализации мембраносвязанных проформ как TGF-α, так и эпирегулина и нейтрализации активности зрелого (растворимого) лиганда. Клинические данные показывают, что Антитело I хорошо переносилось у здоровых субъектов после введения однократной дозы до 750 мг и имело приемлемый профиль переносимости у пациентов с диабетической нефропатией (ДНП) от умеренной до тяжелой степени тяжести после введения многократных доз до 750 мг внутривенно (в/в) каждые 3 недели на протяжении 3-месячного периода. Профиль безопасности Антитела I отличается от такового антител к

EGFR или ингибиторов тирозинкиназы EGFR с низкой частотой нежелательных явлений (НЯ) со стороны кожи и желудочно-кишечного тракта. Зависимое от дозы/концентрации повышение общей концентрации эпирегулина после инфузии Антитела I свидетельствует о том, что оно связывается с эпирегулином *in vivo*. Молекулярные, фармакологические и клинические свойства Антитела I подтверждают концепцию, согласно которой это антитело обладает активностью, доступностью, безопасностью и переносимостью для эффективного лечения заболеваний и расстройств, отвечающих на ингибирование как TGF- α , так и эпирегулина.

Согласно настоящему изобретению предложено Антитело I, которое можно применять для лечения хронической боли, включая ноцицептивную, нейропатическую и смешанную боль, и, в частности, лечения боли при остеоартрите (ОА) или при диабетической периферической нейропатии (ДПНП), или хронической боли в пояснице. Кроме того, согласно настоящему изобретению предложено Антитело I, которое можно применять для лечения боли при остеоартрите (ОА) или при диабетической периферической нейропатии (ДПНП), или хронической боли в пояснице, рефрактерной к двум или более предшествующим режимам монотерапии и/или двойной терапии. Антитело III, имеющее те же CDR, что и Антитело I, исследовали в доклинической модели боли при остеоартрите, и было обнаружено, что оно эффективно при лечении боли в этой модели, как описано ниже. Это подтверждает концепцию, согласно которой Антитело I можно применять для лечения хронических болевых расстройств, как описано в настоящей заявке.

Пример 5: Действие *in vivo* антитела к TGF альфа, Антитела III, в модели остеоартритной боли в колене при разрыве мениска у крыс

ОА представляет собой хроническое изнурительное заболевание суставов, которое приводит к боли в пораженном суставе. В этом исследовании Антитело III исследовали на его способность предотвращать прогрессирование заболевания и уменьшать боль в колене, подобную остеоартритной, в модели остеоартрита на основе разрыва мениска (МТ) на крысах. МТ является хорошо описанной моделью ОА, при которой деструкция сустава и боль возникают после хирургической дестабилизации коленного сустава путем пересечения медиальной коллатеральной связки и медиального мениска. Прогрессирование заболевания ОА оценивали гистологически. Боль измеряли как разницу в весовой нагрузке между оперированным коленом с индуцированным ОА и неоперированным контралатеральным коленом этого же животного. Лечение Антителом III в дозе 1 и 10 мг/кг не оказывало влияния на прогрессирование заболевания ОА, но

показало статистически значимое дозозависимое уменьшение боли по сравнению с контрольным антителом IgG1.

Для этого исследования использовали 48 самцов крыс Льюиса (Harlan, Индианаполис, Индиана) в возрасте от 28 до 29 недель и массой от 345 до 430 граммов.

5 Крыс размещали группами по 3 на клетку и содержали при постоянной температуре с циклом свет/темнота 12 ч/12 ч. Животные имели свободный доступ к пище и воде в любое время, кроме периода сбора данных. Крыс рандомизировали на 3 группы по 16 особей по массе тела, и ОА индуцировали у крыс путем хирургического рассечения медиальной коллатеральной связки и мениска правого коленного сустава. Хирургическое рассечение
10 на левом коленном суставе не проводили. Крысам вводили п/к либо 10 мг/кг контрольного мышинового антитела IgG1, либо 1 или 10 мг/кг Антитела III. Введение доз начинали в день операции непосредственно перед операцией, и крысам вводили дозу один раз в неделю до конца исследования. Объем дозы составлял 2 мл/кг, и введение доз продолжали один раз в
15 неделю путем подкожной инъекции до окончания исследования через 4 недели после операции. Последние дозы вводили за 1 неделю до вскрытия, которое проводилось через 4 недели после операции. При вскрытии собирали правый и левый коленные суставы, фиксировали в 10% цинковом формалине, а затем отправляли в BolderBioPATH для заливки, нарезания срезов, гистологического окрашивания и оценки сертифицированным ветеринарным патологоанатомом. Для оценки боли в этой модели из каждой группы
20 лечения случайным образом отбирали 6 крыс и оценивали боль на День 24 исследования с использованием теста на недееспособность (статическая дифференциальная весовая нагрузка). Тест позволял измерить разницу в весовой нагрузке на заднюю лапу между оперированным и неоперированным коленями. Для этого исследования зарегистрированные значения представляли собой средние значения 3 отдельных
25 измерений, каждое из которых измеряли в течение 1 секунды для каждой крысы. Оператор не владел идентифицирующей информацией о группах лечения выбранных крыс.

Данные о боли представлены как средние значения со стандартной ошибкой среднего ($\pm$ СОС). Данные оценивали с помощью однофакторного анализа средних
30 значений. Группы сравнивали с использованием критерия Даннета, в то время как критерий достоверно значимой разницы Тьюки-Крамера использовали для попарного сравнения с помощью программы для статистического анализа JMP (SAS Institute Inc., NC). Различия считали значимыми, если значение p было меньше 0,05 ($p < 0,05$).

Анализ гистологических данных был выполнен компанией BolderBioPATH.
35 Данные анализировали с использованием критерия Стьюдента или U-критерия Манна-

Уитни (непараметрического). При необходимости данные дополнительно анализировали по всем группам с помощью однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA) или критерия Крускала-Уоллиса (непараметрического) вместе с соответствующим апостериорным критерием для множественных сравнений. Различия считали значимыми, если значение p было меньше 0,05 ($p < 0,05$).

Гистологическая оценка коленных суставов в этом исследовании показала, что лечение Антителом III (1 или 10 мг/кг) не оказывало значительного влияния на поражения при ОА, индуцированном разрывом медиального мениска, у крыс по сравнению с контрольным IgG1. Однако Антитело III значительно уменьшало боль по сравнению с контрольным IgG1 при 1 и 10 мг/кг ($p < 0,001$ согласно критерию Даннета; **Ошибка! Источник ссылки не найден.**). Доза Антитела III 10 мг/кг также значительно отличалась от дозы 1 мг/кг ($p < 0,05$, критерий достоверно значимой разницы Тьюки-Крамера). Данные представляют удивительные и неожиданные доказательства того, что Антитело III эффективно уменьшало боль, согласно измерению различия в весовой нагрузке в модели разрыва мениска на крысах.

Действие у человека

Данные клинических исследований, представленные в этом разделе, получали в соответствии с принципами Надлежащей клинической практики (GCP). На сегодняшний день завершено два клинических исследования, в которых 93 субъекта подвергли воздействию Антитела I. В исследовании I5V-MC-TGAA (TGAA) сорок два здоровых субъекта получили однократные дозы (в/в или п/к). В исследовании I5V-MC-TGAB (TGAB) пятьдесят один пациент получил многократные дозы путем в/в инфузии. Дизайны этих исследований обобщены в Таблице 6.

Таблица 6. Перечень клинических фармакологических исследований

Краткое описание исследования	Условное обозначение исследования	Популяция	Режим дозирования	Оценки безопасности
Плацебо-контролируемое исследование однократной дозы с повышением дозы у здоровых добровольцев	TGAA	56 здоровых субъектов	0,1, 1, 10, 50, 250 или 750 мг Антитела I (n=6 на дозу) в сравнении с плацебо (n=2 на дозу)	Рутинные оценки клинической безопасности, осмотр кожи и глаз, диффузионная

			в/в однократная доза 50 мг п/к однократная доза (n=6 Антитело I, n=2 плацебо)	способность легких и оценка ADA
Рандомизированное, двойное слепое, плацебо-контролируемое исследование фазы 1/2 с многократными в/в инфузиями с повышением дозы (часть А) и исследование с многократными в/в инфузиями с параллельными дозами (часть В) у пациентов с диабетической нефропатией.	TGAB	60 пациентов с диабетической нефропатией	Часть А: многократные повышающиеся дозы 10, 100 и 750 мг Антитела I (n=4 на дозу) в сравнении с плацебо (n=1 на дозу) в/в каждые 3 недели для 2 доз; Часть В: 50 мг (n=14), 250 мг (n=13) или 750 мг Антитела I (n=12) или плацебо (n=6) каждые 3 недели до 5 доз	Рутинные клинические оценки безопасности, DLCO, НЯ, оценка ADA и лабораторные исследования безопасности (включая биохимию, гематологию и анализ мочи).

Сокращения: ADA = антитело к лекарственному средству; НЯ = нежелательное явление; DLCO = измерения диффузионной способности; в/в = внутривенно; n = число субъектов, п/к = подкожно; исследование TGAA = исследование I5V-MC-TGAA; исследование TGAB = исследование I5V-MC-TGAB.

Пример 6: Клиническая фармакология

Фармакокинетика

После однократного и многократного в/в введения Антитела I проявляло нелинейную фармакокинетику, что свидетельствует об опосредуемом мишенью распределении лекарственного средства (Таблицы 6.1, 6.2 и 6.3). При низких дозах кажущийся клиренс Антитела I из плазмы был значительно выше с относительно коротким $T_{1/2}$. По мере повышения дозы Антитела I $T_{1/2}$ Антитела I приближался к 432 часам (18 дней), это согласуется с тем, что обычно наблюдается для моноклональных антител, нацеленных на мембраносвязанные белки. У пациентов с ДН средняя экспозиция Антитела I (AUC от нулевого момента времени до момента t, где t представляет собой последний момент времени с измеримой концентрацией [$AUC_{0-tlast}$]) увеличилась с 2250 мкг•день/мл после однократной дозы (Таблица) до 4880 мкг•день/мл после пятой дозы (Таблица 6.) для в/в инфузий 750 мг, что приводит к приблизительно 2-кратному накоплению при введении каждые 3 недели. После однократной в/в инфузии 750 мг максимальная концентрация (C_{max}) и экспозиция ($AUC_{0-tlast}$) были сопоставимы у здоровых субъектов и пациентов с ДН (среднее значение C_{max} 265 мкг/мл и 368 мкг/мл; среднее значение $AUC_{0-tlast}$ 3040 мкг•день/мл и 2250 мкг•день/мл у здоровых субъектов и пациентов с ДН, соответственно). Моделирование популяционной ФК показало, что фармакокинетика Антитела I была сходной у здоровых субъектов и пациентов с ДН.

Рассчитанная биодоступность Антитела I после п/к введения дозы составила 38%; однако оцениваемая доза (50 мг) находится в диапазоне доз, при которых фармакокинетика является нелинейной. Таким образом, биодоступность в клинически значимом линейном ФК диапазоне, вероятно, будет выше.

Таблица 6.1. Обобщенные данные по некомпартментным фармакокинетическим параметрам Антитела I после однократного в/в и п/к введения доз Антитела I у здоровых добровольцев в исследовании TGAA

Среднее геометрическое (КВ% среднего геометрического)							
	Антитело I 0,1 мг в/в	Антитело I 1 мг в/в	Антитело I 10 мг в/в	Антитело I 50 мг в/в	Антитело I 250 мг в/в	Антитело I 750 мг в/в	Антитело I 50 мг п/к
N	6	6	6	6	6	6	6
C_{max} (мкг/мл)	0,036 (12)	0,390 (24)	3,76 (18)	18,4 (10)	105 (19)	265 (23)	3,42 (54)
$T_{1/2}$ (дни)	н/р (не применимо)	н/р (не применимо)	1,63 (11)	3,76 (23)	8,31 (52)	18,0 ^a (5,4)	3,42 ^a (19)

AUC _{0-tlast} (мкг•день/мл)	0,0069 (18)	0,284 (43)	9,50 (19)	113 (18)	887 (35)	3040 (23)	39,2 (55)
AUC _{0-∞} (мкг•день/мл)	н/р	н/р	9,67 (19)	114 (18)	911 (38)	3310 (26)	39,1 (62)
CL (л/день)	н/р	н/р	1,03 (19)	0,439 (18)	0,274 (38)	0,227 ^a (26)	1,28 ^a (62)
V _{ss} (л)	н/р	н/р	2,64 (11)	2,92 (13)	3,52 (18)	5,48 ^a (21)	н/р
F (%) ^b	н/р	н/р	н/р	н/р	н/р	н/р	38,1
T _{max} ^c (дни)	–	–	–	–	–	–	3,00 (3,00-7,00)

Сокращения: AUC_{0-tlast} = площадь под кривой зависимости концентрации от времени от нулевого момента времени до времени t, где t представляет собой последний момент времени с измеримой концентрацией; AUC_{0-∞} = площадь под кривой зависимости концентрации от времени от нулевого момента времени до бесконечности; CL = общий клиренс лекарственного средства из организма, который представляет собой абсолютный клиренс при в/в введении и кажущийся клиренс (CL/F) при п/к введении; C_{max} = максимальная концентрация в сыворотке; KB = коэффициент вариации; F = биодоступность; в/в = внутривенно; N = число субъектов в дозовой группе; н/п = не применимо; н/р = не поддается расчету; п/к = подкожно; исследование TGAA = исследование I5V-MC-TGAA; T_{max} = время до достижения максимальной концентрации; T_{1/2} = период полувыведения; V_{ss} = объем распределения в стационарном состоянии.

^a Данные от 5 субъектов включены в эти сообщаемые значения.

^b F = (среднее значение AUC_{0-∞} Антитела I 50 мг п/к/среднее значение AUC_{0-∞} Антитела I 50 мг в/в)*100.

^c Медиана (диапазон).

Источник: I5V-MC-TGAA, Таблица 14.2.1.2. Обобщенные данные по фармакокинетическим параметрам полученного Антитела I.

Таблица 6.2. Обобщенные данные по некомпартментным фармакокинетическим параметрам Антитела I после однократного в/в введения дозы Антитела I у пациентов с диабетической нефропатией в исследовании TGAB (часть А)

	Антитело I 10 мг в/в	Антитело I 100 мг в/в	Антитело I 750 мг в/в
N	4	4	4

$C_{\max}$	2,46	35,2	368
(мкг/мл)	(29)	(23)	(92)
$AUC_{0-t_{\text{last}}}$	4,81	224	2250
(мкг•день/мл)	(34)	(29)	(51)
$T_{\max}^a$	0,21	0,21	0,21
(дни)	(0,21 - 0,21)	(0,21 - 0,21)	(0,21 - 0,94)

Сокращения: $AUC_{0-t_{\text{last}}}$ = площадь под кривой зависимости концентрации от времени от нулевого момента времени до времени t, где t представляет собой последний момент времени с измеримой концентрацией; $C_{\max}$ = максимальная концентрация в сыворотке; в/в = внутривенно; N = число субъектов в дозовой группе; исследование TGAB = исследование I5V-MC-TGAB; $T_{\max}$ = время до достижения максимальной концентрации.

^a Медиана (диапазон).

Таблица 6.3. Обобщенные данные по некомпартментным фармакокинетическим параметрам Антитела I после в/в введения 5 доз Антитела I каждые 3 недели у пациентов с диабетической нефропатией в исследовании TGAB (часть B)

	Антитело I 50 мг в/в	Антитело I 250 мг в/в	Антитело I 750 мг в/в
N	8	10	10
$C_{\max}$	20,7	86,5	271
(мкг/мл)	(37)	(56)	(69)
$T_{\max}^a$	0,04	0,04	0,04
(дни)	(0,04 - 0,08)	(0,0 - 0,04)	(0,00 - 15)
$AUC_{0-t_{\text{last}}}$	97,7	1270	4880
(мкг•день/мл)	(73)	(42)	(43)
AUC_{τ}	110 ^b	942	3220
(мкг•день/мл)	(52)	(38)	(49)

Сокращения: $AUC_{0-t_{\text{last}}}$ = площадь под кривой зависимости концентрации от времени от нулевого момента времени до времени t, где t представляет собой последний момент времени с измеримой концентрацией; AUC_{τ} = площадь под кривой зависимости концентрации от времени в течение одного интервала дозирования; $C_{\max}$ = максимальная концентрация в сыворотке; в/в = внутривенно; N = число субъектов в дозовой группе; Q3W = каждые 3 недели; исследование TGAB = исследование I5V-MC-TGAB; $T_{\max}$ = время до достижения максимальной концентрации.

^a Медиана (диапазон).

^b N=4.

Фармакодинамика

Целевое взаимодействие по данным измерения общих концентраций эпирегулина и TGF- α :

Анализы лекарственно-толерантного эпирегулина и TGF- α использовали в клинической программе для измерения общей концентрации эпирегулина (общий эпирегулин или TGF- α = связанный с Антителом I эпирегулин или TGF- α + свободный эпирегулин или TGF- α). Предполагается, что при введении Антитела I эпирегулин/TGF- α будет связываться с Антителом I и количество свободного эпирегулина/TGF- α , доступного для взаимодействия с EGFR, будет снижено. Ожидается, что связанный с Антителом I эпирегулин/TGF- α будет иметь более низкий клиренс, чем свободный эпирегулин/TGF- α , что приведет к увеличению общей концентрации эпирегулина/TGF- α при введении Антитела I.

После введения Антитела I уровни общего эпирегулина в сыворотке увеличивались дозозависимым образом у здоровых субъектов и пациентов с ДН. Уровни общего эпирегулина в сыворотке обычно достигали пика между 1 и 4 неделями после введения однократной дозы Антитела I и продолжали накапливаться после введения последующих доз. Это согласуется с секвестрацией общего эпирегулина в сывороточном компартменте наряду со снижением его клиренса и, следовательно, прогрессивным накоплением его концентрации в сыворотке. Это согласуется с целевым взаимодействием с эпирегулином.

Уровни TGF- α в сыворотке, по-видимому, не менялись при в/в введении однократной дозы Антитела I у здоровых субъектов; у пациентов с ДН наблюдали дозозависимое увеличение общей концентрации TGF- α в сыворотке после введения многократных доз. Однако величина увеличения общего TGF- α в сыворотке была меньше, чем эпирегулина, и она была более вариабельной.

Данные для общего эпирегулина и TGF- α в сыворотке позволяют предположить, что Антитело I связывается как с эпирегулином, так и с TGF- α , и подтверждают доклинические данные о том, что Антитело I может взаимодействовать как с эпирегулином, так и с TGF- α у человека *in vivo*.

Обобщенные данные по безопасности в клинических исследованиях

Исследование TGAA: в этом исследовании не возникло серьезных нежелательных явлений (СНЯ), связанных с введением Антитела I. Ни один субъект не выбыл или не был исключен из-за СНЯ, которое считалось связанным с Антителом I. Возникшие во время лечения СНЯ (TEAE) любой причинной связи, о которых сообщили по меньшей мере 2 субъекта (или $\geq 5\%$) после получения Антитела I и о которых сообщалось чаще, чем у субъектов, получавших плацебо, включали ринит, чихание, боль в спине, кашель, чувство

жара, парестезию и ринорею. Ни одно из ТЕАЕ, которые считались связанными с исследуемым препаратом, не наблюдали более чем у 2 субъектов, рандомизированных в группу Антитела I. У одного субъекта развилась диффузная зудящая пятнисто-папулезная сыпь умеренной степени тяжести через 12 дней после введения дозы 1 мг Антитела I.

5 Сыпь сохранялась в течение 10 дней и разрешилась спонтанно. Исследователь рассматривал сыпь, как связанную с введением доз исследуемого препарата и соответствующую сыпи, обычно связанной с введением общих ингибиторов EGFR. Отсутствовали клинически значимые нарушения артериального давления, частоты сердечных сокращений, интервала QTc, показателей клинических лабораторных
10 исследований или диффузионной способности легких.

Исследование TGAB:

В части А ни один пациент не испытал ТЕАЕ, которое привело к отмене исследуемого препарата, СНЯ или смерти во время исследования. Возникшие во время лечения НЯ развились у 1 из 3 пациентов, получавших плацебо, у 3 из 4 пациентов,
15 получавших 10 мг Антитела I, у 4 из 4 пациентов, получавших 100 мг, и у 2 из 4 пациентов, получавших 750 мг. У одного пациента в каждой группе лечения было по меньшей мере 1 ТЕАЕ, связанное с приемом лекарственного средства.

В части В 1 пациент, получавший плацебо, умер во время исследования. В число пациентов, перенесших по меньшей мере 1 СНЯ, входил 1 из 6 пациентов, получавших
20 плацебо (16,7%), 3 из 14 пациентов в группе 50 мг (21,4%), 6 из 13 пациентов в группе 250 мг (46,2%) и 1 из 12 пациентов в группе 750 мг (8,3%). В общей сложности 25,6% пациентов, получавших Антитело I в части В, сообщили о СНЯ. Ни одно из СНЯ, наблюдавшихся в исследовании, не было расценено как связанное с введением доз исследуемого препарата, и ни одно СНЯ не развилось более чем у 1 пациента, независимо
25 от лечения.

В число пациентов, испытавших ТЕАЕ, которое привело к отмене исследуемого препарата, входил 1 из 6 пациентов, получавших плацебо (16,7%), 2 из 14 пациентов в
группе 50 мг (14,3%), 3 из 13 пациентов в группе 250 мг (23,1%) и 1 из 12 пациентов в группе 750 мг (8,3%). За единственным исключением, все ТЕАЕ, которые привели к
30 отмене исследуемого препарата, считались не связанными с исследуемым препаратом. 1 связанное ТЕАЕ, которое привело к отмене исследуемого препарата, представляло собой генерализованный зуд у пациента, который получил 750 мг Антитела I.

Пять наиболее частых ТЕАЕ, испытанных в Части В пациентами, получавшими лечение Антителом I, включали диарею, усугубление отека, головную боль, ухудшение
35 гипертензии и тошноту (каждое 10,3%). Два наиболее частых ТЕАЕ, испытанных

пациентами, получавшими плацебо, включали головную боль и хроническую болезнь почек (каждое 33,3%). Отсутствовали доказательства зависимости частоты ТЕАЕ от дозы Антитела I. Возникшие во время лечения НЯ из части В исследования TGAB (независимо от причинной связи) обобщены в Таблице 6.4. Ни об одном из ТЕАЕ, связанных с лекарственным средством, не сообщалось более чем 1 пациентом в Части В. Отсутствовали постоянные изменения значений жизненно важных функций или значений лабораторных исследований по сравнению с исходным уровнем с течением времени.

Таблица 6.4. Обобщенные данные по возникшим во время лечения нежелательным явлениям по убыванию частоты предпочтительного термина для всех доз Антитела I – Часть В (популяция для оценки безопасности)

Предпочтительный термин	Плацебо (N=6) n (%)	Антитело I 50 мг (N=14) n (%)	Антитело I 250 мг (N=13) n (%)	Антитело I 750 мг (N=12) n (%)	Все дозы Антитела I (N=39) n (%)
Любое явление	6 (100,0)	13 (92,9)	13 (100,0)	11 (91,7)	37 (94,9)
Диарея	0	1 (7,1)	1 (7,7)	2 (16,7)	4 (10,3)
Усугубление отека	0	3 (21,4)	1 (7,7)	0	4 (10,3)
Головная боль	2 (33,3)	1 (7,1)	2 (15,4)	1 (8,3)	4 (10,3)
Ухудшение гипертонии	1 (16,7)	1 (7,1)	2 (15,4)	1 (8,3)	4 (10,3)
Тошнота	1 (16,7)	1 (7,1)	2 (15,4)	1 (8,3)	4 (10,3)
Инфекция верхних дыхательных путей	1 (16,7)	2 (14,3)	0	1 (8,3)	3 (7,7)
Акне	0	0	2 (15,4)	0	2 (5,1)
Острое поражение почек	0	1 (7,1)	1 (7,7)	0	2 (5,1)
Усугубление анемии	0	1 (7,1)	1 (7,7)	0	2 (5,1)
Повышение креатинина крови	0	1 (7,1)	0	1 (8,3)	2 (5,1)
Брадикардия	0	0	1 (7,7)	1 (8,3)	2 (5,1)
Бронхит	0	0	1 (7,7)	1 (8,3)	2 (5,1)
Целлюлит ноги	0	1 (7,1)	0	1 (8,3)	2 (5,1)

Одышка	0	0	2 (15,4)	0	2 (5,1)
Усугубление усталости	0	0	0	2 (16,7)	2 (5,1)
Вспышка подагры	0	0	0	2 (16,7)	2 (5,1)
Гипокалиемия	0	1 (7,1)	0	1 (8,3)	2 (5,1)
Зуд	0	0	0	2 (16,7)	2 (5,1)
Головокружение	0	1 (7,1)	1 (7,7)	0	2 (5,1)
Мышечные спазмы	1 (16,7)	2 (14,3)	0	0	2 (5,1)
Ортостатическая гипотензия	0	2 (14,3)	0	0	2 (5,1)
Инфекция мочевыводящих путей	0	2 (14,3)	0	0	2 (5,1)
Вирусная инфекция	1 (16,7)	1 (7,1)	0	1 (8,3)	2 (5,1)
Объемная перегрузка	0	2 (14,3)	0	0	2 (5,1)
Рвота	1 (16,7)	1 (7,1)	1 (7,7)	0	2 (5,1)
Рана	0	2 (14,3)	0	0	2 (5,1)

Примечание: НЯ были закодированы с использованием MedDRA, версии 17.0. TEAE представляло собой любое неблагоприятное медицинское явление, которое либо возникло, либо ухудшилось в любое время после начала лечения (т. е. началось после введения первой дозы исследуемого препарата) и которое не обязательно имело причинную взаимосвязь с этим лечением.

Сокращения: НЯ = нежелательное явление; MedDRA = Медицинский словарь по нормативно-правовой деятельности; N = число субъектов в дозовой группе; TEAE = НЯ, возникшее во время лечения.

Пример 7. Рандомизированное, плацебо-контролируемое клиническое исследование фазы 2 для оценки Антитела I для лечения остеоартрита.

5 Целью этого исследования является предоставление клинических доказательств эффективности Антитела I в облегчении боли в колене, вызванной остеоартритом (ОА), у человека. Данные будут собраны для оценки безопасности и переносимости Антитела I в этой исследуемой популяции. Также будут изучены фармакокинетические (ФК) свойства, фармакодинамические (ФД) эффекты и профиль иммуногенности. Совокупность данных этого исследования для подтверждения концепции позволит оценить преимущества и

10 риски, связанные с Антителом I, и послужит основой для клинической разработки Антитела I.

Общий дизайн:

Данное исследование представляет собой 26-недельное, рандомизированное, двойное слепое, плацебо-контролируемое исследование фазы 2, в котором Антитело I будет сравниваться с плацебо у участников с ОА коленного сустава. Данное исследование представляет собой рандомизированное плацебо-контролируемое клиническое исследование фазы 2 с маской для исследователей и участников. Приблизительно 125 участников будут случайным образом распределены для исследуемого вмешательства (84 участника для получения Антитела I и 41 участник для получения плацебо). Данное 26-недельное исследование включает 8-недельный двойной слепой период лечения и 18-недельный период последующего наблюдения. Дизайн данного исследования показан на Фигуре 2.

Исследуемое вмешательство будет осуществляться посредством медленной внутривенной (в/в) инфузии в течение приблизительно 1 часа персоналом исследовательского центра, не владеющим идентифицирующей информацией исследования. Скорость инфузии может быть снижена по мере необходимости, если наблюдается реакция на инфузию. Доза представляет собой начальную дозу 750 мг, а затем 500 мг каждые 2 недели в/в для получения в общей сложности 4 доз. Лекарственная форма представляет собой лиофилизированный порошок, восстановленный стерильным водным 0,9% раствором хлорида натрия. Участники будут получать в/в инфузию каждые 2 недели, в общей сложности 4 инфузии. Участники будут находиться под наблюдением в течение по меньшей мере 4 часов после завершения каждой инфузии.

Во время визитов пациентов завершается сбор всех образцов после начала лечения и мониторинг безопасности, и участники получают инструкции о том, как продолжать соблюдать ограничения исследования и вести записи в дневнике числовой балльной шкалы (NRS) до визита после выписки. Данные об эффективности будут собираться на протяжении до 6 недель после введения последней дозы на основании длительного ФК периода полувыведения и потенциального устойчивого целевого взаимодействия Антитела I. Образцы для оценки безопасности, фармакокинетики (ФК), фармакодинамики (ФД) и иммуногенности будут собираться на протяжении до 20 недель после осуществления последнего вмешательства, чтобы охарактеризовать профиль безопасности и клинической иммуногенности. Участник считается завершившим данное исследование, если он или она завершил(а) все требуемые фазы исследования, включая последнюю запланированную процедуру.

Цели и конечные точки:

Первичные и вторичные цели и конечные точки описаны ниже.

Основная оценка	Показатель
Интенсивность боли	Визуальная аналоговая шкала (ВАШ) для оценки боли
Интенсивность боли	Числовая балльная шкала (NRS) для оценки боли
Балльные оценки участниками общего улучшения	Общее впечатление пациента об изменении состояния (PGI)
Эмоциональное функционирование	5-уровневый опросник EuroQol-5D (EQ-5D-5L)
Качество сна	Шкала для оценки сна Исследования медицинских исходов (MOS)
Физическое функционирование	• Изменение от исходного уровня до конечной точки индекса артрита Университетов Западного Онтарио и МакМастера (WOMAC®) для подшкал для оценки боли, скованности и физической функции • Доля участников со снижением по сравнению с исходным уровнем более чем на 30%, 50% и 70% по подшкале для оценки боли WOMAC по всем моментам времени • Доля участников со снижением по сравнению с исходным уровнем более чем на 30%, 50% и 70% по подшкале для оценки физической функции WOMAC по всем моментам времени

Визуальная аналоговая шкала (ВАШ): ВАШ для оценки боли будет использоваться при скрининге и при каждом визите в клинику. Это графическая шкала с одним пунктом, в которой участников просят описать интенсивность их боли за последнюю неделю в исследуемой области по шкале от 0 до 100: 0 = нет боли и 100 = наихудшая боль, которую можно представить. Участники заполняют ВАШ, помещая линию, перпендикулярную линии ВАШ, в точке, которая описывает интенсивность их боли.

Числовая балльная шкала (NRS): NRS будет использоваться в течение периода ввода предварительных данных (PDEP) и ежедневно на протяжении всего исследования для описания тяжести боли. Это числовая шкала с одним пунктом, в которой участников

5 0 = нет боли, и 10 = самая сильная боль, которую можно представить. Участники ежедневно заполняют NRS, используя домашнее устройство. Соблюдение требований исследования участниками проверяется при каждом визите в клинику. Ежедневно будут собираться данные о наихудшей боли по NRS. Оценки для других вторичных показателей будут собираться при каждом визите, как указано в графике визитов. Первичным

10 показателем исхода является среднее изменение от исходного уровня до конечной точки средней интенсивности боли, оцениваемое по пункту NRS «Пожалуйста, оцените свою боль, выбрав одно число [0-10], которое описывает ваш СРЕДНИЙ уровень боли [в исследуемой области] за последние 24 часа». Этот показатель был выбран на основании продемонстрированной способности указанного показателя детектировать изменения

15 боли и его обычного использования при разных болезненных состояниях. Вторичным показателем является среднее изменение от исходного уровня до конечной точки наихудшей интенсивности боли, измеренное по пункту NRS «Пожалуйста, оцените свою боль, выбрав одно число [0-10], которое описывает ваш НАИХУДШИЙ уровень боли [в исследуемой области] за последние 24 часа». Значение NRS средней боли и наихудшей

20 боли за последние 24 часа будет собираться ежедневно для каждого участника. Для статистических анализов среднее значение NRS средней и наихудшей боли за последние 24 часа будет рассчитываться как для недельных интервалов, так и для двухнедельных интервалов. Среднее значение недельных интервалов для NRS позволит получить 8 наблюдений после исходного уровня, а среднее значение двухнедельных интервалов

25 позволит получить 4 наблюдения после исходного уровня для каждого участника, если участник завершит плацебо-контролируемую часть исследования. Среднее значение недельных интервалов для NRS будет использоваться в первичном анализе эффективности и других анализах, описанных ниже, если иное не указано в плане анализа. Участник должен иметь 50% или более ежедневных значений NRS в течение заранее

30 указанного интервала времени, чтобы рассчитать среднее значение NRS; в противном случае среднее значение NRS для этого визита будет считаться отсутствующим.

Балльные оценки общего улучшения участниками: общее впечатление пациента об изменении состояния (PGI) используется для разных болезненных состояний. Фиксируется точка зрения участника на лечение, помимо дополнительных аспектов

35 общего улучшения. Это числовая шкала от 1 до 7:

1 = намного лучше, 7 = намного хуже. Участника просят «отметить ячейку, которая лучше всего описывает его болевые симптомы в настоящее время по сравнению с тем, какими они были до того, как он начал принимать данное лекарственное средство».

Оценки эмоционального функционирования: Опросник состояния здоровья EQ-5D-5L используется при различных болезненных состояниях. EQ-5D-5L представляет собой один из самых популярных заполняемых пациентами инструментов для оценки качества жизни (Buchholz I, Janssen MF, Kohlmann T, Feng YS. A systematic review of studies comparing the measurement properties of the three-level and five-level versions of the EQ-5D. *Pharmacoeconomics*. 2018;36(6):645-661.). Это описательная система, включающая 5 разделов: подвижность, самообслуживание, повседневную активность, боль/дискомфорт и тревожность/депрессию. Участника просят «отметить ОДНУ ячейку, которая лучше всего описывает его здоровье СЕГОДНЯ», выбрав один из 5 вариантов, представленных в каждом разделе. Оценки по 5 разделам могут быть представлены в виде профиля здоровья или преобразованы в единый итоговый числовой индекс. EQ-5D-5L также включает ВАШ EQ, которая регистрирует самооценку здоровья участника по вертикальной ВАШ от 0 до 100: 0 = наихудшее состояние здоровья, которое вы можете себе представить, и 100 = наилучшее состояние здоровья, которое вы можете себе представить. Инструмент, используемый в данной версии EQ-5D-5L, представляет собой короткую, надежную, валидированную, простую в заполнении шкалу с превосходной надежностью повторных исследований для оценки качества жизни в отношении боли, вызванной несколькими заболеваниями.

Качество сна: Нарушение сна является важной проблемой в исследованиях боли. Среди различных доступных инструментов Шкала для оценки сна Исследования медицинских исходов (MOS) обеспечивает уникальную психометрически валидированную оценку нарушений сна. Эта шкала состоит из 12 вопросов, касающихся прошедшей недели. Участники сообщают, как часто присутствует каждый симптом или проблема со сном по 6-балльной категориальной шкале в диапазоне от «все время» до «никогда». Вопросы о времени засыпания и количестве сна сообщаются как среднее число часов сна каждую ночь. Эта шкала имеет низкую административную нагрузку, использовалась в различных исследованиях боли и была валидирована у пациентов с нейропатической болью.

Оценки безопасности: Запланированные временные точки для оценок безопасности определяются в соответствии с обычной практикой и включают физическое обследование, измерения жизненно важных функций и массы тела, ЭКГ в 12 отведениях, клинические

лабораторные исследования, мониторинг безопасности для печени, C-SSRS и спонтанно сообщенные НЯ.

Оценки эффективности:

Цель	Показатель конечной точки
Первичная:	
Интенсивность боли: Эффективность Антитела I в сравнении с плацебо	Среднее изменение от оценки исходного уровня до конечной точки средней интенсивности боли, измеренное с помощью числовой балльной шкалы (NRS)
Вторичная:	
Физическое функционирование: Эффективность Антитела I в сравнении с плацебо	Среднее изменение от оценки исходного уровня до конечной точки физического функционирования, измеренное, как описано в WOMAC из 24 вопросов и подшкалах.
Общее улучшение: Эффективность Антитела I в сравнении с плацебо	Среднее изменение от оценки исходного уровня до конечной точки общего улучшения, измеренное на основании общего впечатления пациента об изменении состояния
Другие показатели эффективности: Эффективность Антитела I в сравнении с плацебо	• Среднее изменение от оценки исходного уровня до конечной точки наихудшей интенсивности боли, измеренное с помощью NRS • Доля пациентов со снижением боли по сравнению с исходным уровнем более чем на 30%, 50% и 70%, измеренная на основании ответов о средней и наихудшей боли по NRS • Доля пациентов со снижением на 2 балла по сравнению с исходным уровнем, измеренная на основании ответов о средней и наихудшей боли по NRS • Время до ответа на лечение со снижением на 30%, 50% и 70% от исходного уровня, измеренное на основании ответов о средней и наихудшей боли по NRS • Время до ответа на лечение со снижением на 2

	балла относительно исходного уровня, измеренное на основании ответов о средней и наихудшей боли • Среднее изменение от оценки исходного уровня до конечной точки по визуальной аналоговой шкале (ВАШ) для ответов о боли по NRS • Доля пациентов со снижением боли по сравнению с исходным уровнем более чем на 30%, 50% и 70%, измеренная по ВАШ • Среднее изменение от оценки исходного уровня до конечной точки по шкале для оценки сна из Исследования медицинских исходов (шкала для оценки сна MOS) • Доля пациентов со снижением показателей физического функционирования более чем на 30%, 50% и 70% по сравнению с исходным уровнем, как описано в WOMAC, и • Обобщенные данные по частоте, срокам и количеству использованного резервного лекарственного средства во время фазы лечения.
Эмоциональное функционирование: Эффективность каждого исследуемого вмешательства в сравнении с плацебо по сообщаемым пациентами клиническим исходам	Среднее изменение эмоционального функционирования от оценки исходного уровня до конечной точки, измеренное с помощью 5-уровневого опросника EuroQol-5D (EQ-5D-5L)

5 При характеристике хронической боли используется основной набор оценок и доменов, представляющих собой: боль, физическое функционирование, эмоциональное функционирование, балльные оценки общего улучшения участниками, нежелательные явления (НЯ) и распределение участников. NRS выбрана в качестве первичной конечной точки на основании ее продемонстрированной способности детектировать изменения боли и ее обычного использования при исследуемых болезненных состояниях.

Индекс остеоартрита Университетов Западного Онтарио и МакМастера: Индекс остеоартрита Университетов Западного Онтарио и МакМастера (WOMAC®) (Bellamy N. The WOMAC Knee and Hip Osteoarthritis Indices: Development, validation, globalization and influence on the development of the AUSCAN Hand Osteoarthritis Indices. Clin Exp Rheumatol. 2005;23(Suppl.39):148-153) представляет собой валидированный инструмент, который широко используется для оценки ответа на лекарственные средства для лечения боли при остеоартрите. WOMAC, версии LK3.1, применяют в соответствии с графиком мероприятий.

В этой Таблице описывается WOMAC из 24 вопросов и подшкалы.

Разделы	Число вопросов
Боль	5
Скованность	2
Физическая функция	17

Участники будут записывать свои ответы, используя шкалу Лайкерта от 0 до 4 для каждого вопроса: 0 = нет боли и 4 = сильная боль. Оценки по каждой подшкале будут рассчитываться путем суммирования оценок за вопросы в соответствующей подшкале для каждого участника в каждый момент времени. Диапазон возможных оценок для каждой подшкалы представляет собой «боль = от 0 до 20», «скованность = от 0 до 8» и «физическая функция = от 0 до 68». Байесовский анализ повторных измерений со смешанной моделью (MMRM) на протяжении длительного периода времени будет выполняться для оценки изменения от исходного уровня до каждого визита после оценки исходного уровня для подшкалы боли WOMAC и подшкалы физической функции. Доля участников в каждой группе лечения, соответствующих заранее указанным бинарным исходам эффективности, будет оцениваться для каждой временной точки после оценки исходного уровня и будет использоваться для сравнения групп лечения. Оценки будут получены путем аппроксимации байесовской модели для длительного периода времени, которая включает все наблюдения после оценки исходного уровня. Заранее указанные бинарные исходы эффективности включают долю участников в ISA: со снижением более чем на 30%, 50% и 70% по сравнению с исходным уровнем, измеренным с помощью подшкалы боли WOMAC, и со снижением более чем на 30%, 50% и 70% по сравнению с исходным уровнем, измеренным по подшкале физической функции WOMAC. Модель будет включать категориальные и непрерывные ковариаты, описанные выше в модели непрерывного анализа эффективности, за исключением того, что взаимодействие исходного уровня и визита не будет использоваться. Дополнительные условия модели

могут быть рассмотрены и указаны в плане статистического анализа. Кумулятивная функция распределения процентного изменения от исходного уровня до конечной точки для подшкал боли и физической функции WOMAC будет предоставлена для каждой группы лечения.

5 График мероприятий (SoA):

Данный график мероприятий показывает определенные визиты и процедуры для исследования Антитела I. «Основной протокол» относится к условиям протокола для руководства несколькими потенциальными исследованиями при данном болезненном состоянии или нескольких болезненных состояниях, и приложение для конкретного вмешательства относится к части протокола, конкретно относящейся к данному исследуемому вмешательству.

10

	Скрининг ^a		Двойной слепой период лечения						
Основной протокол НОР-МС-СРМР	Скрининговый визит для основного протокола	Скрининговый визит перед рандомизацией	Рандомизация в ISA					Досрочное прекращение	Примечания
Номер визита	V1 ^b	V2 ^c	V3	V4	V5	V6	V7	Досрочное прекращение	Визиты после V7 могут быть указаны в ISA.
Неделя исследования	До -6 месяцев	от -10 до -7 дней для большинства участников	0	2	4	6	8		
Шкалы, опросники и показатели исходов									
ВАШ для оценки боли	X	X	X	X	X	X	X	X	
NRS для оценки боли		X	X	X	X	X	X	X	Собирается ежедневно с помощью домашнего устройства. Соблюдение требований исследования проверяется при каждом визите в клинику.
Отчет об		X	X	X	X	X	X	X	Общее

использо вании резервног о лекарстве нного средства									количество, собираемое ежедневно с помощью домашнего устройства. Соблюдение требований исследования проверяется при каждом визите в клинику.
Шкала катастро физации боли	X								
PGI				X	X	X	X	X	
EQ-5D- 5L			X	X	X	X	X	X	
Шкала для оценки сна MOS			X	X	X	X	X	X	

	Скрининг ^a		Двойной слепой период лечения						
НОР- МС- ОА01 DSA	Скринин говый визит	Скрининговый визит перед рандомизацией	Рандоми зация					Досрочное прекращение	Примечания
Номер визита	V1 ^b	V2 ^c	V3	V 4	V 5	V 6	V7	Досрочное прекращение	
Неделя исслед ования	До -6 месяцев	от -10 до -7 дней	0	2	4	6	8		
Процед ура									
Подтве рждени е критер иев включе ния и исключ	X	X							

ения DSA									
Рентге нограф ия	X								Передние/задн ие и боковые рентгенограмм ы коленного сустава с весовой нагрузкой
WOMA C [®]			X	X	X	X	X	X	

Сокращения: DSA = приложение по болезненному состоянию; ED = досрочное прекращение; V = визит; WOMAC = Индекс остеоартрита Университетов Западного Онтарио и МакМастера.

^a Скрининговые оценки могут быть проведены в другие моменты времени до рандомизации, если они снижают нагрузку на участников.

^b Исследовательский центр определяет период полувыведения каждого обезболивающего лекарственного средства, которое принимает участник в настоящее время, чтобы запланировать визит 2. Визит 2 может быть запланирован не ранее чем за 7 дней до рандомизации при визите 3 из-за необходимого 7-дневного PDEP

^c Период вымывания, включающий 5 периодов полувыведения, для обезболивающих лекарственных средств должен наступить до PDEP, в результате этого для большинства участников он составляет минимум 10 дней.

Исследуемая популяция:

Участники мужского и женского пола подходят для включения в исследование, если в их истории имеется ежедневная боль на основании сообщения пациента или анамнеза.

Критерии включения:

5 Участники подходят для включения в исследование только при соблюдении всех следующих критериев:

на момент подписания информированного согласия им исполнилось 40 лет и более;
имеют боль в индексном колене на протяжении >12 недель во время визита 1;

10 имеют рентгенограмму, подтверждающую диагноз остеоартрита в соответствии с критериями Американского колледжа ревматологии с радиографической классификацией по шкале Келлгрена-Лоуренса от 2 до 4 индексного колена; они имеют стабильный гликемический контроль, на который указывает гликированный гемоглобин (HbA1c) менее или равный 10 во время скрининга;

15 это мужчины или женщины, которые соблюдают предложенные репродуктивные и противозачаточные требования; они готовы прекратить прием всех обезболивающих лекарственных средств для исследуемого состояния, за исключением резервного лекарственного средства, разрешенного до V801 в период последующего наблюдения;

они должны иметь венозный доступ на обеих руках для в/в инфузии и сбора образцов.

Характеристики боли:

они имеют значение оценки боли по визуальной аналоговой шкале (ВАШ) >40 и <95 во время визитов 1 и 2;

они имеют историю ежедневной боли в течение по меньшей мере 12 недель на основании сообщения пациента или анамнеза;

они имеют значение ≤ 30 по шкале катастрофизации боли;

Масса тела: они имеют индекс массы тела <40 кг/м² (включительно)

Информированное согласие:

они способны дать информированное согласие, которое включает соблюдение требований и ограничений, перечисленных в форме информированного согласия (ICF) и в протоколе;

они надежны, готовы и способны участвовать во всех требуемых процедурах протокола на всем протяжении исследования;

они готовы поддерживать постоянный режим любых видов текущей немедикаментозной обезболивающей терапии (например, физиотерапии) и не будут начинать какие-либо новые виды немедикаментозной обезболивающей терапии во время участия в исследовании;

они готовы прекратить прием всех обезболивающих лекарственных средств для исследуемого состояния, за исключением резервного лекарственного средства, разрешенного протоколом, на всем протяжении исследования;

они должны вводить требуемые ежедневные оценки во время PDER в течение по меньшей мере 5 из 7 дней до рандомизации.

Критерии исключения:

Участников исключают из исследования, если выполняется любой из следующих критериев:

они в значительной степени или полностью недееспособны и не могут в полной мере участвовать во всех процедурах протокола, например, прикованы к постели или к инвалидному креслу, что позволяет ухаживать за собой в незначительной степени или совсем не позволяет ухаживать за собой;

они имеют хирургическое оборудование или другое инородное тело в индексном колене;

они имеют нестабильный индексный сустав (например, разрыв передней крестообразной связки);

они перенесли хирургическую процедуру или терапевтическую инъекцию в пораженном колене в течение 3 месяцев до начала периода вымывания;

они имеют фибромиалгию, хронический болевой синдром или другие сопутствующие медицинские или артритические состояния, которые могут помешать оценке индексного колена;

они имеют синдром Рейтера, ревматоидный артрит, псориатический артрит, анкилозирующий спондилоартрит, артрит, связанный с воспалительным заболеванием кишечника, саркоидоз или амилоидоз в анамнезе;

они имеют клинические признаки и симптомы активной инфекции колена или болезни депонирования кристаллов индексного колена;

они имеют инфекцию в индексном суставе в анамнезе;

они имеют артрит из-за кристаллов (например, подагра, псевдоподагра) в анамнезе;

они имеют остеоартрит ипсилатерального тазобедренного сустава; или

Другие медицинские состояния: им была сделана внутрисуставная инъекция гиалуроновой кислоты в течение 24 недель после визита 2; имеют рСКФ менее 70 мл/мин/1,73 м² на основании формулы СКД-ЕРІ во время визита 1 или визита 2; имеют любое клинически серьезное или нестабильное сердечно-сосудистое, скелетно-мышечное расстройство, желудочно-кишечное, эндокринологическое, гематологическое, печеночное, метаболическое, урологическое, легочное, дерматологическое, иммунологическое или офтальмологическое заболевание в течение 3 месяцев после визита 3.

Предшествующая/сопутствующая терапия: они получали какие-либо антитела против фактора роста нервов (NGF), или антитела против EGFR, или ингибиторы тирозинкиназы EGFR; наличие в анамнезе аллергических реакций на моноклональные антитела или клинически значимой множественной или тяжелой лекарственной аллергии, включая, но не ограничиваясь перечисленными, значительную многоформную эритему, линейный иммуноглобулин А-связанный дерматоз, токсический эпидермальный некролиз или эксфолиативный дерматит; имеют в анамнезе или текущую неконтролируемую астму, экзему, значительную атопию, значительный наследственный ангионевротический отек или общую переменную иммунную недостаточность, и

Репродуктивные: они представляют собой женщин, которые беременны или кормят грудью.

От участников требуется поддерживать сходный уровень деятельности в течение двойного слепого периода исследования. Запрещается начинать новую программу упражнений или новую напряженную деятельность.

Участники, получающие физиотерапию по поводу ОА индексного колена, должны придерживаться той же программы терапии (интенсивность и частота).

Оценки и процедуры исследования

Фармакокинетика:

Образцы венозной крови объемом приблизительно 4 мл будут собраны для измерения концентраций Антитела I. Образцы будут использоваться для оценки ФК

5 Антитела I.

Персонал центра будет регистрировать дату и время (в 24-часовом формате) введения Антитела I (начало и конец инфузии), а также дату и время (в 24-часовом формате) каждого образца ФК.

Фармакодинамика:

10 Образцы венозной крови объемом приблизительно 4 мл каждый будут собраны для измерения эфирегулина. Любые оставшиеся образцы крови можно использовать для исследования других потенциальных конечных точек ФД, включая, но не ограничиваясь им, TGF- α .

Оценки иммуногенности:

15 Иммуногенность будет оцениваться с помощью валидированного анализа, предназначенного для детектирования ADA в присутствии Антитела I, в лаборатории, одобренной спонсором. Антитела могут быть дополнительно охарактеризованы по их способности нейтрализовать активность Антитела I. Во время указанных визитов и временных точек перед введением дозы будут собраны образцы венозной крови для
20 определения продукции антител против Антитела I. Фактическая дата и время (в 24-часовом формате) каждого сбора образцов будет регистрироваться. Если образец для оценки иммуногенности во время последней запланированной оценки или визита в связи с прекращением лечения является положительным в отношении возникших во время
лечения (TE) антител к лекарственному средству (ADA), могут быть взяты
25 дополнительные образцы до тех пор, пока сигнал не вернется к исходному уровню (т. е. перестанет быть положительным на TE-ADA) или до 1 года после введения последней дозы. Чтобы облегчить интерпретацию этих результатов, образец крови перед введением дозы для анализа фармакокинетики будет взят в те же моменты времени.

Статистические гипотезы:

30 Байесовский критический фактор успеха (CSF) определяется и используется для оценки того, достигло ли Антитело I своей первичной конечной точки. CSF будет оцениваться для первичной конечной точки эффективности, средней интенсивности боли, измеренной с помощью NRS, с использованием методологии, описанной в настоящей заявке и известной специалисту в данной области техники, и будет рассчитываться по
35 завершении двойной слепой части каждого исследования. CSF будет иметь общий вид:

вероятность (эффект лечения $<$ эффект, представляющий интерес) $>$ порог вероятности. Эффект лечения будет определяться как оценка Антитела I – оценка плацебо изменения по сравнению с исходным уровнем в конечной точке. Эффект, представляющий интерес, обычно обнаруживается с помощью поиска литературы или клинического суждения.

- 5 Порог вероятности обычно устанавливается так, чтобы иметь желаемый уровень уверенности в эффекте лечения или иметь желаемые рабочие характеристики при ряде правдоподобных предполагаемых сценариев эффекта лекарственного средства, включая нулевой эффект. Дополнительные гипотезы будут включать сравнение активного вмешательства с плацебо для заранее указанных целей и конечных точек, определенных в
- 10 настоящей заявке. Исследование может быть проведено в соответствии с протоколом, в котором предполагается несколько исследований, а данные о плацебо могут быть общими по мере необходимости.

- Критерий принятия решения для первичной гипотезы определяется как по меньшей мере 70% уверенность в том, что Антитело I по меньшей мере на 0,55 единицы лучше, чем
- 15 плацебо, в отношении средней интенсивности боли, измеренной с помощью NRS. Ключевая вторичная нулевая гипотеза заключается в отсутствии различия между Антителом I и плацебо по ключевой вторичной конечной точке, среднему изменению от исходного уровня до конечной точки для оценки по подшкале боли WOMAC[®]. Критерий принятия решения для ключевой вторичной гипотезы определяется как по меньшей мере
- 20 70% уверенность в том, что Антитело I по меньшей мере на 0,35 единицы превосходит плацебо по подшкале боли WOMAC[®].

Определение размера выборки:

- Приблизительно 125 участников будут рандомизированы в соотношении 2:1 для получения Антитела I и плацебо, соответственно. Ожидается, что приблизительно 107
- 25 участников завершат двойной слепой период лечения исследования. Этот размер выборки обеспечит мощность более 80%, чтобы продемонстрировать, что группа активного лечения имеет апостериорную вероятность $\geq 0,7$ превосходить плацебо по меньшей мере на 0,35 единицы по подшкале боли WOMAC[®] (WOMAC = Индекс остеоартрита Университетов Западного Онтарио и МакМастера).

- 30 Допущение для расчета мощности состоит в том, что средние снижения интенсивности боли по сравнению с исходным уровнем, измеренные по подшкале боли WOMAC, составляют приблизительно 3 единицы и 4 единицы в конечной точке для плацебо и Антитела I, соответственно, с общим стандартным отклонением 2,25. Если нет различий в лечении между плацебо и Антителом I, вероятность прохождения указанного
- 35 выше критерия эффективности (т.е. ложноположительного результата) составляет

приблизительно 0,1. Моделирование для расчета мощности и определения размера выборки выполняли в FACTS, версия 6.0.

Популяции для анализов:

- 5 Фармакокинетическая популяция включает, например, всех рандомизированных участников, которые получили полную дозу Антитела I во время визита 3 и у которых был собран по меньшей мере 1 подлежащий оценке ФК образец до введения дозы во время визита 4 или после него.

10 **Пример 8. Рандомизированное, плацебо-контролируемое клиническое исследование фазы 2 по оценке Антитела I для лечения боли при диабетической периферической нейропатии.**

- 15 Целью данного исследования является предоставление клинических доказательств эффективности Антитела I в облегчении боли при диабетической периферической нейропатии (ДПНП) у человека. Данные будут собраны для оценки безопасности и переносимости Антитела I в этой исследуемой популяции. Также будут изучены фармакокинетические (ФК) свойства, фармакодинамические (ФД) эффекты и профиль иммуногенности. Совокупность данных этого исследования для подтверждения концепции позволит оценить преимущества и риски, связанные с Антителом I, и послужит основой для клинической разработки Антитела I.

Общий дизайн:

Данное исследование представляет собой 26-недельное, рандомизированное, двойное слепое, плацебо-контролируемое исследование фазы 2, в котором Антитело I будет сравниваться с плацебо у участников с ДПНП. Данное исследование представляет собой рандомизированное, плацебо-контролируемое клиническое исследование фазы 2 с маской для исследователей и участников. Приблизительно 125 участников будут случайным образом распределены для исследуемого вмешательства (84 участника для получения Антитела I и 41 участник для получения плацебо). Данное 26-недельное исследование включает 8-недельный двойной слепой период лечения и 18-недельный период последующего наблюдения. Дизайн данного исследования показан на Фигуре 2.

Исследуемое вмешательство будет осуществляться посредством медленной внутривенной (в/в) инфузии в течение приблизительно 1 часа персоналом исследовательского центра, не владеющим идентифицирующей информацией исследования. Скорость инфузии может быть снижена по мере необходимости, если наблюдается реакция на инфузию. Доза представляет собой начальную дозу 750 мг, а затем 500 мг каждые 2 недели в/в для получения в общей сложности 4 доз. Лекарственная форма представляет собой лиофилизированный порошок, восстановленный стерильным водным 0,9% раствором хлорида натрия. Участники будут получать в/в инфузию каждые 2 недели, в общей сложности 4 инфузии. Участники будут находиться под наблюдением в течение по меньшей мере 4 часов после завершения каждой инфузии.

Во время визитов пациентов завершается сбор всех образцов после начала лечения и мониторинг безопасности, и участники получают инструкции о том, как продолжать соблюдать ограничения исследования и вести записи в дневнике числовой балльной шкалы (NRS) до визита после выписки. Данные об эффективности будут собираться на протяжении до 6 недель после введения последней дозы на основании длительного ФК периода полувыведения и потенциального устойчивого целевого взаимодействия Антитела I. Образцы для оценки безопасности, фармакокинетики (ФК), фармакодинамики (ФД) и иммуногенности будут собираться на протяжении до 20 недель после осуществления последнего вмешательства, чтобы охарактеризовать профиль безопасности и клинической иммуногенности. Участник считается завершившим данное исследование, если он или она завершил(а) все требуемые фазы исследования, включая последнюю запланированную процедуру.

Цели и конечные точки:

Первичные и вторичные цели и конечные точки описаны ниже.

Основная оценка	Показатель
-----------------	------------

Интенсивность боли	Визуальная аналоговая шкала (ВАШ) для оценки боли
Интенсивность боли	Числовая балльная шкала (NRS) для оценки боли
Балльные оценки общего улучшения участниками	Общее впечатление пациента об изменении состояния (PGI)
Эмоциональное функционирование	5-уровневый опросник EuroQol-5D (EQ-5D-5L)
Качество сна	Шкала для оценки сна Исследования медицинских исходов (MOS)
Физическое функционирование	- Изменение от исходного уровня до конечной точки для Краткого опросника для оценки боли (BPI-SF) для: Индивидуальной оценки тяжести, Индивидуальной оценки помех, Общей оценки помех. - Доля участников со снижением по сравнению с исходным уровнем >30%, 50% и 70% на основании индивидуальных оценок тяжести по BPI-SF. - Доля участников со снижением по сравнению с исходным уровнем >30%, 50% и 70% на основании общей оценки помех по BPI-SF.

Визуальная аналоговая шкала (ВАШ): ВАШ для оценки боли будет использоваться при скрининге и при каждом визите в клинику. Это графическая шкала с одним пунктом, в которой участников просят описать интенсивность их боли за последнюю неделю в исследуемой области по шкале от 0 до 100: 0 = нет боли и 100 = наихудшая боль, которую можно представить. Участники заполняют ВАШ, помещая линию, перпендикулярную линии ВАШ, в точке, которая описывает интенсивность их боли.

Числовая балльная шкала (NRS): NRS будет использоваться в течение периода ввода предварительных данных (PDEP) и ежедневно на протяжении всего исследования для описания тяжести боли. Это числовая шкала с одним пунктом, в которой участников просят описать их среднюю и наихудшую боль за последние 24 часа по шкале от 0 до 10: 0 = нет боли, и 10 = самая сильная боль, которую можно представить. Участники ежедневно заполняют NRS, используя домашнее устройство. Соблюдение требований исследования участниками проверяется при каждом визите в клинику. Ежедневно будут

собираются данные о наихудшей боли по NRS. Оценки для других вторичных показателей будут собираться при каждом визите, как указано в графике визитов. Первичным показателем исхода является среднее изменение от исходного уровня до конечной точки средней интенсивности боли, оцениваемое по пункту NRS «Пожалуйста, оцените свою 5 боль, выбрав одно число [0-10], которое описывает ваш СРЕДНИЙ уровень боли [в исследуемой области] за последние 24 часа». Этот показатель был выбран на основании продемонстрированной способности указанного показателя детектировать изменения боли и его обычного использования при разных болезненных состояниях. Вторичным показателем является среднее изменение от исходного уровня до конечной точки для 10 наихудшей интенсивности боли, измеренное по пункту NRS «Пожалуйста, оцените свою боль, выбрав одно число [0-10], которое описывает ваш НАИХУДШИЙ уровень боли [в исследуемой области] за последние 24 часа». Значение NRS средней боли и наихудшей боли за последние 24 часа будет собираться ежедневно для каждого участника. Для статистических анализов среднее значение NRS средней и наихудшей боли за последние 15 24 часа будет рассчитываться как для недельных интервалов, так и для двухнедельных интервалов. Среднее значение недельных интервалов для NRS позволит получить 8 наблюдений после исходного уровня, а среднее значение двухнедельных интервалов позволит получить 4 наблюдения после исходного уровня для каждого участника, если участник завершит плацебо-контролируемую часть исследования. Среднее значение 20 недельных интервалов для NRS будет использоваться в первичном анализе эффективности и других анализах, описанных ниже, если иное не указано в плане анализа. Участник должен иметь 50% или более ежедневных значений NRS в течение заранее указанного интервала времени, чтобы рассчитать среднее значение NRS; в противном случае среднее значение NRS для этого визита будет считаться отсутствующим.

25 Балльные оценки общего улучшения участниками: общее впечатление пациента об изменении состояния (PGI) используется для разных болезненных состояний. Фиксируется точка зрения участника на лечение, помимо дополнительных аспектов общего улучшения. Это числовая шкала от 1 до 7:

1 = намного лучше, 7 = намного хуже. Участника просят «отметить ячейку, которая 30 лучше всего описывает его болевые симптомы в настоящее время по сравнению с тем, какими они были до того, как он начал принимать данное лекарственное средство».

Оценки эмоционального функционирования: Опросник состояния здоровья EQ-5D-5L используется при различных болезненных состояниях. EQ-5D-5L представляет собой один из самых популярных заполняемых пациентами инструментов для оценки качества 35 жизни (Buchholz I, Janssen MF, Kohlmann T, Feng YS. A systematic review of studies

comparing the measurement properties of the three-level and five-level versions of the EQ-5D. Pharmacoeconomics. 2018;36(6):645-661.). Это описательная система, включающая 5 разделов: подвижность, самообслуживание, повседневную активность, боль/дискомфорт и тревожность/депрессию. Участника просят «отметить ОДНУ ячейку, которая лучше всего описывает его здоровье СЕГОДНЯ», выбрав из 5 вариантов, представленных в каждом разделе. Оценки по 5 разделам могут быть представлены в виде профиля здоровья или преобразованы в единый итоговый числовой индекс. EQ-5D-5L также включает ВАШ EQ, которая регистрирует самооценку здоровья участника по вертикальной ВАШ от 0 до 100: 0 = худшее состояние здоровья, которое вы можете себе представить, и 100 = лучшее состояние здоровья, которое вы можете себе представить. Инструмент, используемый в данной версии EQ-5D-5L, представляет собой короткую, надежную, валидированную, простую в заполнении шкалу с превосходной надежностью повторных исследований для оценки качества жизни в отношении боли, вызванной несколькими заболеваниями.

Качество сна: Нарушение сна является важной проблемой в исследованиях боли. Среди различных доступных инструментов Шкала для оценки сна Исследования медицинских исходов (MOS) обеспечивает уникальную психометрически валидированную оценку нарушений сна. Эта шкала состоит из 12 вопросов, касающихся прошедшей недели. Участники сообщают, как часто присутствует каждый симптом или проблема со сном по 6-балльной категориальной шкале в диапазоне от «все время» до «никогда». Вопросы о времени засыпания и количестве сна сообщаются как среднее число часов сна каждую ночь. Эта шкала имеет низкую административную нагрузку, использовалась в различных исследованиях боли и была валидирована у пациентов с нейропатической болью.

Оценки безопасности: Запланированные временные точки для оценок безопасности определяются в соответствии с обычной практикой и включают физическое обследование, измерения жизненно важных функций и массы тела, ЭКГ в 12 отведениях, клинические лабораторные исследования, мониторинг безопасности для печени, C-SSRS и спонтанно сообщенные НЯ.

Оценки эффективности:

Цель	Показатель конечной точки
Первичная:	
Интенсивность боли: Эффективность Антитела I в сравнении с плацебо	Среднее изменение от оценки исходного уровня до конечной точки средней интенсивности боли, измеренное с помощью числовой балльной шкалы (NRS)

Вторичная:	
Физическое функционирование: Эффективность Антитела I в сравнении с плацебо	Среднее изменение от оценки исходного уровня до конечной точки физического функционирования, измеренное как описано в: - Изменение от исходного уровня до конечной точки по Краткому опроснику для оценки боли (BPI-SF) для: Индивидуальной оценки тяжести, Индивидуальной оценки помех, Общей оценки помех. - Доля участников со снижением по сравнению с исходным уровнем >30%, 50% и 70% на основании индивидуальных оценок тяжести по BPI-SF. - Доля участников со снижением по сравнению с исходным уровнем >30%, 50% и 70% на основании общей оценки помех по BPI-SF.
Общее улучшение: Эффективность Антитела I в сравнении с плацебо	Среднее изменение от оценки исходного уровня до конечной точки общего улучшения, измеренное на основании общего впечатления пациента об изменении состояния
Другие показатели эффективности: Эффективность Антитела I в сравнении с плацебо	- Среднее изменение от оценки исходного уровня до конечной точки наихудшей интенсивности боли, измеренное с помощью NRS - Доля пациентов со снижением боли по сравнению с исходным уровнем более чем на 30%, 50% и 70%, измеренная на основании ответов о средней и наихудшей боли по NRS - Доля пациентов со снижением на 2 балла по сравнению с исходным уровнем, измеренная на основании ответов о средней и наихудшей боли по NRS - Время до ответа на лечение со снижением на 30%, 50% и 70% относительно исходного

	уровня, измеренное на основании ответов о средней и наихудшей боли по NRS • Время до ответа на лечение со снижением на 2 балла относительно исходного уровня, измеренное на основании ответов о средней и наихудшей боли • Среднее изменение от оценки исходного уровня до конечной точки по визуальной аналоговой шкале (ВАШ) для ответов о боли по NRS • Доля пациентов со снижением боли по сравнению с исходным уровнем более чем на 30%, 50% и 70%, измеренная по ВАШ • Среднее изменение от оценки исходного уровня до конечной точки по шкале для оценки сна Исследования медицинских исходов (шкала для оценки сна MOS) • Доля пациентов со снижением показателей физического функционирования более чем на 30%, 50% и 70% по сравнению с исходным уровнем, как описано в Кратком опроснике для оценки боли – модифицированной краткой форме (BPI-SF), и • Обобщенные данные о частоте, сроках и количестве использованного резервного лекарственного средства во время фазы лечения.
Эмоциональное функционирование: Эффективность каждого исследуемого вмешательства в сравнении с плацебо по сообщаемым пациентами клиническим исходам	Среднее изменение эмоционального функционирования от оценки исходного уровня до конечной точки, измеренное с помощью 5-уровневого опросника EuroQol-5D (EQ-5D-5L)

При характеристике хронической боли используется основной набор оценок и доменов, представляющих собой: боль, физическое функционирование, эмоциональное функционирование, балльные оценки общего улучшения участников, нежелательные явления (НЯ) и распределение участников. NRS выбрана в качестве первичной конечной точки на основании ее продемонстрированной способности детектировать изменения боли и ее обычного использования при исследуемых болезненных состояниях.

Краткий опросник для оценки боли – модифицированная краткая форма (BPI-SF)

BPI-SF представляет собой числовую балльную шкалу, в которой оценивается тяжесть боли (шкала тяжести), ее влияние на повседневное функционирование (шкала помех) и другие аспекты боли (например, локализация боли, облегчение от лекарственных средств) при различных болезненных состояниях (Cleeland CS, Ryan KM. Pain assessment: global use of the Brief Pain Inventory. Ann Acad Med Singapore. 1994 Mar;23(2):129-138). В этой Таблице описаны шкалы для оценки боли и соответствующая числовая балльная шкала, используемая в модифицированной версии BPI, валидированные для боли при диабетической полинейропатии. Участники будут оценивать тяжесть своей боли и то, как в течение последних 24 часов боль мешала действиям, описанным в этой Таблице.

Оценка	Тема	Числовая балльная шкала 0-10
Тяжесть боли по 4 пунктам	• Наихудшая боль за последние 24 часа • Наименьшая боль за последние 24 часа • Средняя боль • Боль прямо сейчас	0 = нет боли 10 = боль настолько сильная, насколько вы можете себе представить
Помехи из-за боли по 7 пунктам	• Общая деятельность • Настроение • Способность ходить • Нормальная работа • Отношения с другими • Сон • Наслаждение жизнью	0 = не мешает 10 = полностью мешает

График мероприятий (SoA):

Данный график мероприятий показывает определенные визиты и процедуры для исследования Антитела I. «Основной протокол» относится к условиям протокола для

руководства несколькими потенциальными исследованиями при данном болезненном состоянии или нескольких болезненных состояниях, приложение по болезненному состоянию относится к руководству для конкретного болезненного состояния, а приложение по конкретному вмешательству относится к части протокола, конкретно относящейся к исследуемому вмешательству.

5

	Скрининг ^a		Двойной слепой период лечения						
Основной протокол НОР-МС-СРМР	Скрининговый визит для основного протокола	Скрининговый визит перед рандомизацией	Рандомизация в ISA					Досрочное прекращение	Примечания
Номер визита	V1 ^b	V2 ^c	V3	V4	V5	V6	V7	Досрочное прекращение	Визиты после V7 могут быть указаны в ISA.
Неделя исследования	До -6 месяцев	от -10 до -7 дней для большинства участников	0	2	4	6	8		
ВАШ для оценки боли	X	X	X	X	X	X	X	X	
Шкалы, опросники и показатели исходов									
NRS для оценки боли		X	X	X	X	X	X	X	Собирается ежедневно с помощью домашнего устройства. Соблюдение требований исследования проверяется при каждом визите в клинику.
Отчет об использовании резервного лекарственного средства		X	X	X	X	X	X	X	Общее количество, собираемое ежедневно с помощью домашнего устройства. Соблюдение требований исследования проверяется при

									каждом визите в клинику.
Шкала катастрофизации боли	X								
PGI				X	X	X	X	X	
EQ-5D-5L			X	X	X	X	X	X	
Шкала сна MOS			X	X	X	X	X	X	

	Скрининг ^a		Двойной слепой период лечения						
H0P-MC-NP03 DSA	Скрининговый визит	Скрининговый визит перед рандомизацией	Рандомизация					Досрочное прекращение	Примечания
Номер визита	V1 ^b	V2 ^c	V3	V4	V5	V6	V7	Досрочное прекращение	
Неделя исследования				2	4	6	8		
Процедура									
Подтверждение критериев включения и исключения DSA	X	X							
Мичиганский опросник для скрининга нейропатии	X								
Краткий опросник для оценки боли –			X	X	X	X	X	X	

модифицированная краткая форма									
--------------------------------	--	--	--	--	--	--	--	--	--

Сокращения: DSA = приложение по болезненному состоянию; ED = досрочное прекращение; V = визит.

^a Скрининговые оценки могут быть проведены в другие моменты времени до рандомизации, если они снижают нагрузку на участников.

^b Исследовательский центр определяет период полувыведения каждого обезболивающего лекарственного средства, которое принимает участник в настоящее время, чтобы запланировать визит 2. Визит 2 может быть запланирован не ранее чем за 7 дней до рандомизации при визите 3 из-за необходимого 7-дневного PDEP

^c Период вымывания, включающий 5 периодов полувыведения, для обезболивающих лекарственных средств должен наступить до PDEP, в результате этого для большинства участников он составляет минимум 10 дней.

Исследуемая популяция:

Участники мужского и женского пола подходят для включения в исследование, если в их истории имеется ежедневная боль на основании сообщения пациента или анамнеза. Расчетная СКФ будет использоваться для стратификации, чтобы обеспечить сбалансированное число участников для анализа почечных эффектов. Измерения будут собираться во время визита 2, и подмножества больше или равны 90 и меньше 90.

Мичиганский опросник для скрининга нейропатии используется для оценки нейропатии в ногах и ступнях пациентов с диабетом (Мичиганский опросник для скрининга нейропатии. Веб-сайт Мичиганского университета. Доступно по ссылке: http://www.med.umich.edu/borc/profs/documents/svi/MNSI_patient.pdf. Опубликовано в 2000 г. Посещение 11 декабря 2019). Он будет применяться в соответствии с графиком мероприятий. В этой Таблице описаны оценки, включенные в опросник.

Часть	Оценка	Заполнен	Число пунктов
A	Анамнез	Участником исследования	15
B	Физическая	Медицинским работником	5

Будет использоваться как часть A, так и часть B. Только часть B будет использоваться для определения включения в исследование.

Критерии включения:

Участники подходят для включения в исследование только при соблюдении всех следующих критериев:

на момент подписания информированного согласия им исполнилось 18 лет и более;

они имеют ежедневную симметричную боль в стопе, вторичную по отношению к периферической нейропатии, которая присутствует в течение по меньшей мере 6 месяцев

и диагностирована с помощью Мичиганского опросника для скрининга нейропатии, часть В ≥ 3 (© Мичиганский университет [WWW]);

они имеют в анамнезе и в настоящее время диагноз сахарного диабета типа 1 или типа 2;

5 они имеют стабильный гликемический контроль, на что указывает гликированный гемоглобин ≤ 11 во время скрининга;

это мужчины или женщины, которые соблюдают предложенные репродуктивные и противозачаточные требования;

они готовы прекратить прием всех обезболивающих лекарственных средств для
10 исследуемого состояния, за исключением резервного лекарственного средства, разрешенного до V801 в период последующего наблюдения;

они должны иметь венозный доступ на обеих руках для в/в инфузии и сбора образцов.

Характеристики боли:

15 они имеют значение оценки боли по визуальной аналоговой шкале (ВАШ) >40 и <95 во время визитов 1 и 2;

они имеют историю ежедневной боли в течение по меньшей мере 12 недель на основании сообщения пациента или анамнеза;

они имеют значение ≤ 30 по шкале катастрофизации боли;

20 Масса тела: они имеют индекс массы тела <40 кг/м² (включительно)

Информированное согласие:

они способны дать информированное согласие, которое включает соблюдение требований и ограничений, перечисленных в форме информированного согласия (ICF) и в протоколе;

25 они надежны, готовы и способны участвовать во всех требуемых процедурах протокола на протяжении всего исследования;

они готовы поддерживать постоянный режим любых видов текущей немедикаментозной обезболивающей терапии (например, физиотерапии) и не будут начинать какие-либо новые виды немедикаментозной обезболивающей терапии во время
30 участия в исследовании;

они готовы прекратить прием всех обезболивающих лекарственных средств для исследуемого состояния, за исключением резервного лекарственного средства, разрешенного протоколом, на протяжении всего исследования;

они должны вносить требуемые ежедневные оценки во время PDER в течение по
35 меньшей мере 5 из 7 дней до рандомизации.

Критерии исключения:

Участников исключают из исследования, если выполняется любой из следующих критериев:

они имеют текущую индуцированную лекарственным средством нейропатию, например, из-за некоторых типов химиотерапии, или другие типы периферической нейропатии;

они имеют известные наследственные моторные, сенсорные или вегетативные нейропатии.

Другие медицинские состояния:

они имеют рСКФ менее 70 мл/мин/1,73 м² по формуле СКД-ЕРІ во время визита 1 или визита 2;

Они имеют любое клинически серьезное или нестабильное сердечно-сосудистое, скелетно-мышечное расстройство, желудочно-кишечное, эндокринологическое, гематологическое, печеночное, метаболическое, урологическое, легочное, дерматологическое, иммунологическое или офтальмологическое заболевание в течение 3 месяцев после визита 3.

Предшествующая/сопутствующая терапия: они получали какие-либо антитела против фактора роста нервов (NGF) или антитела против EGFR, или ингибиторы тирозинкиназы EGFR; наличие в анамнезе аллергических реакций на моноклональные антитела или клинически значимой множественной или тяжелой лекарственной аллергии, включая, но не ограничиваясь перечисленными, значительную многоформную эритему, линейный иммуноглобулин А-связанный дерматоз, токсический эпидермальный некролиз или эксфолиативный дерматит; имеют в анамнезе или текущую неконтролируемую астму, экзему, значительную атопию, значительный наследственный ангионевротический отек или общую вариабельную иммунную недостаточность, и

Репродуктивные: они представляют собой женщин, которые беременны или кормят грудью.

От участников требуется поддерживать сходный уровень деятельности в течение двойного слепого периода исследования. Запрещается начинать новую программу упражнений или новую напряженную деятельность.

Фармакокинетика:

Образцы венозной крови объемом приблизительно 4 мл будут собраны для измерения концентраций Антитела I. Образцы будут использоваться для оценки ФК Антитела I.

Персонал центра будет регистрировать дату и время (в 24-часовом формате) введения Антитела I (начало и конец инфузии), а также дату и время (в 24-часовом формате) каждого образца ФК.

Фармакодинамика:

- 5 Образцы венозной крови объемом приблизительно 4 мл каждый будут собраны для измерения эпирегулина. Любые оставшиеся образцы крови можно использовать для исследования других потенциальных конечных точек ФД, включая, но не ограничиваясь этим, TGF- α .

Оценки иммуногенности:

- 10 Иммуногенность будет оцениваться с помощью валидированного анализа, предназначенного для детектирования ADA в присутствии Антитела I, в лаборатории, одобренной спонсором. Антитела могут быть дополнительно охарактеризованы по их способности нейтрализовать активность Антитела I. Во время указанных визитов и временных точек перед введением дозы будут собраны образцы венозной крови для
15 определения продукции антител против Антитела I. Фактическая дата и время (24-часовой формат) каждого сбора образцов будет регистрироваться. Если образец для оценки иммуногенности во время последней запланированной оценки или визита в связи с прекращением лечения является положительным в отношении возникших во время
лечения (TE) антител к лекарственному средству (ADA), могут быть взяты
20 дополнительные образцы до тех пор, пока сигнал не вернется к исходному уровню (т. е. перестанет быть положительным на TE-ADA) или до 1 года после введения последней дозы. Чтобы облегчить интерпретацию этих результатов, образец крови перед введением дозы для анализа фармакокинетики будет взят в те же моменты времени.

Статистические гипотезы:

- 25 Байесовский критический фактор успеха (CSF) определяется и используется для оценки того, достигло ли Антитело I своей первичной конечной точки. CSF будет оцениваться для первичной конечной точки эффективности, средней интенсивности боли, измеренной с помощью NRS, с использованием методологии, описанной в настоящей заявке и известной специалисту в данной области техники, и будет рассчитываться по
30 завершении двойной слепой части каждого исследования. CSF будет иметь общий вид:
вероятность (эффект лечения < эффект, представляющий интерес) > порог вероятности. Эффект лечения будет определяться как оценка Антитела I – оценка плацебо изменения от исходного уровня в конечной точке. Эффект, представляющий интерес, обычно обнаруживается с помощью поиска литературы или клинического суждения. Порог
35 вероятности обычно устанавливается так, чтобы иметь желаемый уровень уверенности в

эффекте лечения или иметь желаемые рабочие характеристики при ряде правдоподобных предполагаемых сценариев эффекта лекарственного средства, включая нулевой эффект. Дополнительные гипотезы будут включать сравнение активного вмешательства с плацебо для заранее указанных целей и конечных точек, определенных в настоящей заявке.

- 5 Исследование может быть проведено в соответствии с протоколом, в котором предполагается несколько исследований, а данные о плацебо могут быть общими по мере необходимости.

Критерий принятия решения для первичной гипотезы определяется как по меньшей мере 70% уверенность в том, что Антитело I по меньшей мере на 0,4 единицы
10 превосходит плацебо в отношении средней интенсивности боли, измеренной с помощью NRS.

Непрерывный анализ эффективности BPI-SF: Байесовский анализ повторных измерений со смешанной моделью (MMRM) на протяжении длительного периода времени будет выполняться для оценки изменения от исходного уровня до каждого визита после
15 оценки исходного уровня для шкалы общих помех из-за боли. Анализ будет использоваться для анализа изменения от исходного уровня до каждого визита после оценки исходного уровня для шкал: индивидуальных помех из-за боли, общих помех из-за боли (сумма 7 ответов) и индивидуальной тяжести боли. Доля участников в каждой группе лечения, соответствующих заранее указанным бинарным исходам эффективности,
20 будет оцениваться для каждой временной точки после оценки исходного уровня и будет использоваться для сравнения групп лечения. Оценки будут получены путем аппроксимации байесовской модели для длительного периода времени, которая включает все наблюдения после оценки исходного уровня. Заранее указанные бинарные исходы эффективности включают долю участников со снижением >30%, 50% и 70% по сравнению с исходным уровнем, измеренным на основании индивидуальных оценок
25 тяжести по BPI-SF, и со снижением >30%, 50% и 70% по сравнению с исходным уровнем, измеренным на основании общей оценкой помех по BPI-SF.

Определение размера выборки:

Приблизительно 125 участников будут рандомизированы в соотношении 2:1 для получения Антитела I и плацебо, соответственно. Ожидается, что приблизительно 107 участников завершат двойной слепой период лечения исследования. Этот размер выборки обеспечит мощность более 80%, чтобы продемонстрировать, что группа активного лечения имеет апостериорную вероятность $\geq 0,7$ превосходить плацебо по меньшей мере на 0,4 единицы в отношении средней интенсивности боли, измеренной по NRS.

Допущение для расчета мощности состоит в том, что среднее снижение средней интенсивности боли, измеренное с помощью NRS, составляет приблизительно 1,58 единицы и 2,58 единицы в конечной точке для плацебо и Антитела I, соответственно, с общим стандартным отклонением 2. Если нет различий в лечении между плацебо и Антителом I, вероятность прохождения указанного выше критерия эффективности (т.е. ложноположительного результата) составляет приблизительно 0,06. Моделирование для расчета мощности и определения размера выборки выполняли в FACTS, версия 6.0.

Популяции для анализов:

Фармакокинетическая популяция включает, например, всех рандомизированных участников, которые получили полную дозу Антитела I во время визита 3 и у которых был собран по меньшей мере 1 подлежащий оценке ФК образец до введения дозы во время визита 4 или после него.

Пример 9: Рандомизированное, плацебо-контролируемое клиническое исследование фазы 2 для оценки Антитела I для лечения хронической боли в пояснице.

Цель этого исследования состоит в том, чтобы предоставить клинические доказательства эффективности Антитела I в облегчении боли, вызванной хронической болью в пояснице (CLBP), у человека. Данные будут собраны для оценки безопасности и переносимости Антитела I в этой исследуемой популяции. Также будут изучены фармакокинетические (ФК) свойства, фармакодинамические (ФД) эффекты и профиль иммуногенности. Совокупность данных этого исследования для подтверждения концепции позволит оценить преимущества и риски, связанные с Антителом I, и послужит основой для клинической разработки Антитела I.

Общий дизайн:

Данное исследование представляет собой 26-недельное, рандомизированное, двойное слепое, плацебо-контролируемое исследование фазы 2, в котором Антитело I будет сравниваться с плацебо у участников с CLBP. Данное исследование представляет собой рандомизированное, плацебо-контролируемое клиническое исследование фазы 2 с

маской для исследователей и участников. Приблизительно 150 участников будут случайным образом распределены для исследуемого вмешательства (100 участников для получения Антитела I и 50 участников для получения плацебо). Данное 26-недельное исследование включает 8-недельный двойной слепой период лечения и 18-недельный период последующего наблюдения. Дизайн данного исследования показан на Фигуре 2. Следует отметить, что методы, спецификации и процедуры могут быть общими с Примерами 7, 8 и 9, и специалист в данной области техники поймет, что нет необходимости повторять их в каждом примере, и, аналогично, следует понимать, что дополнительные рутинные исследования здоровья и нежелательных явлений, типичные для клинических исследований, являются частью дизайна и проведения исследований Примеров 7, 8 и 9.

Исследуемое вмешательство будет осуществляться посредством медленной внутривенной (в/в) инфузии в течение приблизительно 1 часа персоналом исследовательского центра, не владеющим идентифицирующей информацией исследования. Скорость инфузии может быть снижена по мере необходимости, если наблюдается реакция на инфузию. Доза представляет собой начальную дозу 750 мг, а затем 500 мг каждые 2 недели в/в для получения в общей сложности 4 доз. Лекарственная форма представляет собой лиофилизированный порошок, восстановленный стерильным водным 0,9% раствором хлорида натрия. Участники будут получать в/в инфузию каждые 2 недели, в общей сложности 4 инфузии. Участники будут находиться под наблюдением в течение по меньшей мере 4 часов после завершения каждой инфузии.

Во время визитов пациентов завершается сбор всех образцов после начала лечения и мониторинг безопасности, и участники получают инструкции о том, как продолжать соблюдать ограничения исследования и вести записи в дневнике числовой балльной шкалы (NRS) до визита после выписки. Данные об эффективности будут собираться на протяжении до 6 недель после введения последней дозы на основании длительного ФК периода полувыведения и потенциального устойчивого целевого взаимодействия Антитела I. Образцы для оценки безопасности, фармакокинетики (ФК), фармакодинамики (ФД) и иммуногенности будут собираться на протяжении до 20 недель после осуществления последнего вмешательства, чтобы охарактеризовать профиль безопасности и клинической иммуногенности. Участник считается завершившим данное исследование, если он или она завершил(а) все требуемые фазы исследования, включая последнюю запланированную процедуру.

Цели и конечные точки:

Показатели эффективности исходов: первичные показатели исходов включают: изменение средней интенсивности боли по сравнению с исходным уровнем, измеренное с помощью числовой балльной шкалы (NRS), изменение средней интенсивности боли по сравнению с исходным уровнем, измеренное с помощью NRS [временные рамки: исходный уровень, до недели 8], вторичные показатели исходов включают: изменение по сравнению с исходным уровнем по опроснику для функциональных нарушений Роланда Морриса (RMDQ), изменение по сравнению с исходным уровнем по RMDQ [временные рамки: исходный уровень, до недели 8], изменение общего улучшения по сравнению с исходным уровнем, измеренное по общему впечатлению пациента об изменении состояния, изменение общего улучшения по сравнению с исходным уровнем, измеренное по общему впечатлению пациента об изменении состояния [временные рамки: исходный уровень, до недели 8], изменение наихудшей интенсивности боли по сравнению с исходным уровнем, измеренное по NRS, изменение наихудшей интенсивности боли по сравнению с исходным уровнем, измеренное по NRS [временные рамки: исходный уровень, до недели 8], изменение по сравнению с исходным уровнем по визуальной аналоговой шкале (ВАШ) для боли, изменение по сравнению с исходным уровнем по ВАШ для боли [временные рамки: исходный уровень, до недели 8], изменение по сравнению с исходным уровнем по шкале для оценки сна из Исследования медицинских исходов (шкала MOS для сна), изменение по сравнению с исходным уровнем по шкале для оценки сна по шкале MOS для сна [временные рамки: исходный уровень, до недели 8], общее количество резервного лекарственного средства, общее количество резервного лекарственного средства [временные рамки: от исходного уровня до недели 8], изменение по сравнению с исходным уровнем по 5-уровневому опроснику EuroQol-5D (EQ-5D-5L), изменение по сравнению с исходным уровнем по EQ-5D-5L.

Обзор оценок:

Основная оценка	Показатель
Интенсивность боли	Визуальная аналоговая шкала (ВАШ) для оценки боли
Интенсивность боли	Числовая балльная шкала (NRS) для оценки боли
Балльные оценки общего улучшения участниками	Общее впечатление пациента об изменении состояния (PGI)
Эмоциональное функционирование	5-уровневый опросник EuroQol-5D (EQ-5D-5L)
Качество сна	Шкала для оценки сна Исследования медицинских исходов (MOS)

Физическое функционирование Эффективность каждого исследуемого вмешательства в сравнении с плацебо	• Изменение от исходного уровня до конечной точки для опросника по функциональным нарушениям Роланда-Морриса (RMDQ) • Доля участников со снижением по сравнению с исходным уровнем общей оценки RMDQ по меньшей мере на 3,5 балла для всех временных точек • Доля участников со снижением по сравнению с исходным уровнем более чем на 30%, 50% и 70% по RMDQ для всех временных точек
---	--

Оценки эффективности:

Цель	Показатель конечной точки
Интенсивность боли: Эффективность Антитела I в сравнении с плацебо	Среднее изменение от оценки исходного уровня до конечной точки средней интенсивности боли, измеренное с помощью числовой балльной шкалы (NRS)
Общее улучшение: Эффективность Антитела I в сравнении с плацебо	Среднее изменение от оценки исходного уровня до конечной точки общего улучшения, измеренное на основании общего впечатления пациента об изменении состояния
Эффективность Антитела I в сравнении с плацебо	• Среднее изменение от оценки исходного уровня до конечной точки наихудшей интенсивности боли, измеренное с помощью NRS • Доля пациентов со снижением боли по сравнению с исходным уровнем более чем на 30%, 50% и 70%, измеренная на основании ответов о средней и наихудшей боли по NRS • Доля пациентов со снижением на 2 балла по сравнению с исходным уровнем, измеренная на основании ответов о средней и наихудшей боли по

	NRS • Время до ответа на лечение со снижением на 30%, 50% и 70% по сравнению с исходным уровнем, измеренное на основании ответов о средней и наихудшей боли по NRS • Время до ответа на лечение со снижением на 2 балла по сравнению с исходным уровнем, измеренное на основании ответов о средней и наихудшей боли • Среднее изменение от оценки исходного уровня до конечной точки по визуальной аналоговой шкале (ВАШ) для ответов о боли по NRS • Доля пациентов со снижением боли по сравнению с исходным уровнем более чем на 30%, 50% и 70%, измеренная по ВАШ • Среднее изменение от оценки исходного уровня до конечной точки по шкале для оценки сна Исследования медицинских исходов (шкала для оценки сна MOS) • Доля пациентов со снижением показателей физического функционирования более чем на 30%, 50% и 70% по сравнению с исходным уровнем, как описано в RMDQ, и • Обобщенные данные по частоте, срокам и количеству использованного резервного лекарственного средства во время фазы лечения.
Эмоциональное функционирование:	Среднее изменение эмоционального

Эффективность каждого исследуемого вмешательства в сравнении с плацебо по сообщаемым пациентами клиническим исходам	функционирования от оценки исходного уровня до конечной точки, измеренное с помощью 5-уровневого опросника EuroQol-5D (EQ-5D-5L)
---	--

При характеристике хронической боли используется основной набор оценок и доменов, представляющих собой: боль, физическое функционирование, эмоциональное функционирование, балльные оценки общего улучшения участниками, нежелательные явления (НЯ) и распределение участников. NRS выбрана в качестве первичной конечной точки на основании ее продемонстрированной способности детектировать изменения боли и ее обычного использования при исследуемых болезненных состояниях.

Визуальная аналоговая шкала (ВАШ): ВАШ для оценки боли будет использоваться при скрининге и при каждом визите в клинику. Это графическая шкала с одним пунктом, в которой участников просят описать интенсивность их боли за последнюю неделю в исследуемой области по шкале от 0 до 100: 0 = нет боли и 100 = наихудшая боль, которую можно представить. Участники заполняют ВАШ, помещая линию, перпендикулярную линии ВАШ, в точке, которая описывает интенсивность их боли. Числовая балльная шкала (NRS): NRS будет использоваться в течение периода ввода предварительных данных (PDEP) и ежедневно на протяжении всего исследования для описания тяжести боли. Это числовая шкала с одним пунктом, в которой участников просят описать их среднюю и наихудшую боль за последние 24 часа по шкале от 0 до 10: 0 = нет боли, и 10 = самая сильная боль, которую можно представить. Участники ежедневно заполняют NRS, используя домашнее устройство. Соблюдение требований исследования участниками проверяется при каждом визите в клинику. Ежедневно будут собираться данные о наихудшей боли по NRS. Оценки для других вторичных показателей будут собираться при каждом визите, как указано в графике визитов. Первичным показателем исхода является среднее изменение от исходного уровня до конечной точки средней интенсивности боли, оцениваемое по пункту NRS «Пожалуйста, оцените свою боль, выбрав одно число [0-10], которое описывает ваш СРЕДНИЙ уровень боли [в исследуемой области] за последние 24 часа». Этот показатель был выбран на основании продемонстрированной способности указанного показателя детектировать изменения боли и его обычного использования при разных болезненных состояниях. Вторичным показателем является среднее изменение от исходного уровня до конечной точки для наихудшей интенсивности боли, измеренное по пункту NRS «Пожалуйста, оцените свою боль, выбрав одно число [0-10], которое описывает ваш НАИХУДШИЙ уровень боли [в

исследуемой области] за последние 24 часа». Значение NRS средней боли и наихудшей боли за последние 24 часа будет собираться ежедневно для каждого участника. Для статистических анализов среднее значение NRS средней и наихудшей боли за последние 24 часа будет рассчитываться как для недельных интервалов, так и для двухнедельных интервалов. Среднее значение недельных интервалов для NRS позволит получить 8 наблюдений после исходного уровня, а среднее значение двухнедельных интервалов позволит получить 4 наблюдения после исходного уровня для каждого участника, если участник завершит плацебо-контролируемую часть исследования. Среднее значение недельных интервалов для NRS будет использоваться в первичном анализе эффективности и других анализах, описанных ниже, если иное не указано в плане анализа. Участник должен иметь 50% или более ежедневных значений NRS в течение заранее указанного интервала времени, чтобы рассчитать среднее значение NRS; в противном случае среднее значение NRS для этого визита будет считаться отсутствующим.

Балльные оценки общего улучшения участниками: общее впечатление пациента об изменении состояния (PGI) используется при разных болезненных состояниях. Фиксируется точка зрения участника на лечение, помимо дополнительных аспектов общего улучшения. Это числовая шкала от 1 до 7: 1 = намного лучше, 7 = намного хуже. Участника просят «отметить ячейку, которая лучше всего описывает его болевые симптомы в настоящее время по сравнению с тем, какими они были до того, как он начал принимать данное лекарственное средство».

Оценки эмоционального функционирования: Опросник состояния здоровья EQ-5D-5L используется при различных болезненных состояниях. EQ-5D-5L представляет собой один из самых популярных заполняемых пациентами инструментов для оценки качества жизни (Buchholz I, Janssen MF, Kohlmann T, Feng YS. A systematic review of studies comparing the measurement properties of the three-level and five-level versions of the EQ-5D. PharmacoEconomics. 2018;36(6):645-661.). Это описательная система, включающая 5 разделов: подвижность, самообслуживание, повседневную активность, боль/дискомфорт и тревожность/депрессию. Участника просят «отметить ОДНУ ячейку, которая лучше всего описывает его здоровье СЕГОДНЯ», выбрав из 5 вариантов, представленных в каждом разделе. Оценки по 5 разделам могут быть представлены в виде профиля здоровья или преобразованы в единый итоговый числовой индекс. EQ-5D-5L также включает ВАШ EQ, которая регистрирует самооценку здоровья участника по вертикальной ВАШ от 0 до 100: 0 = худшее состояние здоровья, которое вы можете себе представить, и 100 = лучшее состояние здоровья, которое вы можете себе представить. Инструмент, используемый в данной версии EQ-5D-5L, представляет собой короткую, надежную, валидированную,

простую в заполнении шкалу с превосходной надежностью повторных исследований для оценки качества жизни в отношении боли, вызванной несколькими заболеваниями.

Качество сна: Нарушение сна является важной проблемой в исследованиях боли. Среди различных доступных инструментов шкала для оценки сна Исследования медицинских исходов (MOS) обеспечивает уникальную психометрически валидированную оценку нарушений сна. Эта шкала состоит из 12 вопросов, касающихся прошедшей недели. Участники сообщают, как часто присутствует каждый симптом или проблема со сном по 6-балльной категориальной шкале в диапазоне от «все время» до «никогда». Вопросы о времени засыпания и количестве сна сообщаются как среднее число часов сна каждую ночь.

Оценки безопасности: Запланированные временные точки для оценок безопасности определяются в соответствии с обычной практикой и включают физическое обследование, измерения жизненно важных функций и массы тела, ЭКГ в 12 отведениях, клинические лабораторные исследования, мониторинг безопасности для печени, C-SSRS и спонтанно зарегистрированные НЯ.

Опросник функциональных нарушений Роланда Морриса: Опросник функциональных нарушений Роланда Морриса (RMDQ) представляет собой простой, чувствительный и надежный метод измерения функциональных нарушений у пациентов с болью в спине. RMDQ состоит из 24 утверждений, касающихся восприятия человеком боли в спине и связанных с ней функциональных нарушений на основе: физических способностей/активности, сна/отдыха, психосоциальных факторов, ведения домашнего хозяйства, приема пищи и частоты боли. Участников спрашивают, считают ли они, что утверждение описывает их собственные обстоятельства в этот день. Общую оценку получают путем подсчета числа ответов «Да» в диапазоне от: от 0 = нет функциональных нарушений до 24 = максимальные функциональные нарушения.

PainDETECT: Опросник painDETECT состоит из 7 вопросов о качестве симптомов нейропатической боли. Первоначально он был предложен для фиксации фенотипа нейропатической боли у пациентов с болью в пояснице (Freynhagen 2006). Участнику легко на него ответить, и он не требует физического обследования. Оценка ≥ 19 указывает на то, что боль, вероятно, фенотипически нейропатическая ($>90\%$).

Статистические анализы:

В данной Таблице определен фактор стратификации для хронической боли в пояснице.

Нейропатическая боль	Оценка по painDETECT
----------------------	----------------------

Положительное наличие	≥ 19
Неясно или отрицательно	< 19

Любые дополнительные факторы стратификации могут быть определены в ISA.

Анализ конечной точки — RMDQ

Непрерывный анализ эффективности: Байесовский анализ повторных измерений со смешанной моделью (MMRM) на протяжении длительного периода времени будет выполняться для оценки изменения от исходного уровня до каждого визита после оценки исходного уровня для оценки RMDQ. Будет реализована та же стратегия заимствования плацебо, что и описанная в основном протоколе; однако заимствование эффектов лечения из других DSA не будет выполняться. Также будет проведен дополнительный байесовский анализ MMRM с использованием данных только соответствующего ISA, в котором не используются какие-либо заимствования информации о плацебо. Анализ будет использоваться для анализа изменения от исходного уровня до каждого визита после оценки исходного уровня для оценки RMDQ (См. Freynhagen R, Baron R, Gockel U, Tölle TR. painDETECT: a new screening questionnaire to identify neuropathic components in patients with back pain. Curr Med Res Opin. 2006;22(10):1911-1920.).

В этой Таблице описана информация, включенная в модель.

Категориальные эффекты	• лечение • визит, и • взаимодействие лечения и визита
Непрерывные ковариаты	• оценка RMDQ в исходных условиях и • взаимодействие оценки RMDQ в исходных условиях по визитам

Категориальный анализ эффективности:

Доля участников в каждой группе лечения, соответствующих заранее указанным бинарным исходам эффективности, будет оцениваться для каждой временной точки после оценки исходного уровня и будет использоваться для сравнения групп лечения. Оценки будут получены путем аппроксимации байесовской модели для длительного периода времени, которая включает все наблюдения после оценки исходного уровня.

Заранее указанные бинарные исходы эффективности включают долю участников в ISA:

- со снижением более чем на 30%, 50% и 70% по сравнению с исходным уровнем, измеренным с помощью оценки RMDQ, и

- со снижением по меньшей мере на 3,5 балла по сравнению с исходным уровнем оценки RMDQ.

Модель будет включать категориальные и непрерывные ковариаты, описанные выше в модели непрерывного анализа эффективности, за исключением того, что взаимодействие исходного уровня и визита не будет использоваться. Кумулятивная функция распределения процентного изменения оценок RMDQ от исходного уровня до конечной точки будет предоставлена для каждой группы лечения.

График мероприятий (SoA):

Данный график мероприятий показывает определенные визиты и процедуры для исследования Антитела I. «Основной протокол» относится к условиям протокола для руководства несколькими потенциальными исследованиями при данном болезненном состоянии или нескольких болезненных состояниях, и приложение для конкретного вмешательства относится к части протокола, конкретно относящейся к данному исследуемому вмешательству.

	Скрининг ^a		Двойной слепой период лечения						
Основной протокол НОР-МС-СРМР	Скрининговый визит для основного протокола	Скрининговый визит перед рандомизацией	Рандомизация в ISA					Досрочное прекращение	Примечания
Номер визита	V1 ^b	V2 ^c	V3	V4	V5	V6	V7	Досрочное прекращение	Визиты после V7 могут быть указаны в ISA.
Неделя исследования	До -6 месяце в	от -10 до -7 дней для большинства участников	0	2	4	6	8		
ВАШ для оценки боли	X	X	X	X	X	X	X	X	
Шкалы, опросники и показатели исходов									
NRS для оценки боли		X	X	X	X	X	X	X	Собирается ежедневно с помощью

									домашнего устройства. Соблюдение требований исследования проверяется при каждом визите в клинику.
Отчет об использовании резервного лекарственного средства		X	X	X	X	X	X	X	Общее количество, собираемое ежедневно с помощью домашнего устройства. Соблюдение требований исследования проверяется при каждом визите в клинику.
Шкала катастрофизации боли	X								
PGI				X	X	X	X	X	
EQ-5D-5L			X	X	X	X	X	X	
Шкала для оценки сна MOS			X	X	X	X	X	X	

	Скрининг ^a		Двойной слепой период лечения						
H0P-MC-BP02 DSA	Скрининговый визит	Скрининговый визит перед рандомизацией	Рандомизация					Досрочное прекращение	Примечания
Номер визита	V1 ^b	V2 ^c	V3	V4	V5	V6	V7	Досрочное прекращение	
Неделя исследования	До -6 месяцев	от -7 до -10 дней	0	2	4	6	8		

Процедура									
Подтверждение критериев включения и исключения DSA	X	X							
Рентгенография	X								Рентгенограммы поясничного отдела позвоночника спереди/сзади, сбоку в проекциях со сгибанием и разгибанием
Опросник функциональных нарушений Роланда Морриса			X	X	X	X	X	X	
rainDETECT	X								

Сокращения: DSA = приложение по болезненному состоянию; ED = досрочное прекращение; V = визит.

^a Скрининговые оценки могут быть проведены в другие моменты времени до рандомизации, если они снижают нагрузку на участников.

^b Исследовательский центр определяет период полувыведения каждого обезболивающего лекарственного средства, которое принимает участник в настоящее время, чтобы запланировать визит 2. Визит 2 может быть запланирован не ранее чем за 7 дней до рандомизации при визите 3 из-за необходимого 7-дневного PDEP

^c Период вымывания, включающий 5 периодов полувыведения, для обезболивающих лекарственных средств должен наступить до PDEP, в результате этого для большинства участников он составляет минимум 10 дней.

Исследуемая популяция: участники мужского и женского пола подходят для включения в исследование, если в их истории имеется ежедневная боль на основании сообщения пациента или анамнеза.

5 Информированное согласие: они способны дать информированное согласие, которое включает соблюдение требований и ограничений, перечисленных в форме

информированного согласия (ICF) и в протоколе; они надежны, готовы и способны участвовать во всех требуемых процедурах протокола на протяжении всего исследования; они готовы поддерживать постоянный режим любых видов текущей немедикаментозной обезболивающей терапии (например, физиотерапии) и не будут начинать какие-либо новые виды немедикаментозной обезболивающей терапии во время участия в исследовании; они готовы прекратить прием всех обезболивающих лекарственных средств для исследуемого состояния, за исключением резервного лекарственного средства, разрешенного протоколом, на протяжении всего исследования; они должны вносить требуемые ежедневные оценки во время PDER в течение по меньшей мере 5 из 7 дней до рандомизации.

Критерии включения:

Участники подходят для включения в исследование только при соблюдении всех следующих критериев:

- На момент подписания информированного согласия им исполнилось 18 лет и более;
- Имеют значение оценки боли по визуальной аналоговой шкале (ВАШ) ≥ 40 и < 95 во время скрининга.
- Имеют историю ежедневной боли в течение по меньшей мере 12 недель на основании сообщения участника или анамнеза.
- Имеют значение ≤ 30 по шкале катастрофизации боли.
- Имеют индекс массы тела < 40 кг на квадратный метр ($\text{кг}/\text{м}^2$) (включительно).
- Готовы поддерживать постоянный режим любых видов текущей немедикаментозной обезболивающей терапии (например, физиотерапии) и не будут начинать какие-либо новые виды немедикаментозной обезболивающей терапии во время участия в исследовании.
- Готовы прекратить прием всех обезболивающих лекарственных средств для исследуемого состояния, за исключением резервного лекарственного средства, разрешенного протоколом, на протяжении всего исследования.
- Имеют в анамнезе боль в пояснице в течение по меньшей мере 3 месяцев, локализованную между 12-м грудным позвонком и нижними ягодичными складками, с иррадиацией или без нее.
- Имеют в анамнезе боль в пояснице, классифицированную Квебекской рабочей группой как категории 1-3.
- Имеют стабильный гликемический контроль, на что указывает гликированный гемоглобин (HbA1c) меньше или равный 10 во время скрининга.

- Имеют расчетную скорость клубочковой фильтрации (pСКФ) менее 70 мл/мин/1,73 м² во время скрининга.
- Это мужчины или женщины, которые способны соблюдать репродуктивные и противозачаточные требования.

5 Критерии исключения:

Участников исключают из исследования, если выполняется любой из следующих критериев:

- Имеют любое клинически серьезное или нестабильное сердечно-сосудистое, скелетно-мышечное расстройство, желудочно-кишечное (ЖК),
10 эндокринологическое, гематологическое, печеночное, метаболическое, урологическое, легочное, дерматологическое, иммунологическое или офтальмологическое заболевание в течение 3 месяцев в сравнении с исходными условиями.
- Получали какие-либо антитела против фактора роста нервов (NGF), антитела против
15 EGFR или ингибиторы тирозинкиназы EGFR (TKI).
- Имеют в анамнезе аллергические реакции на моноклональные антитела или клинически значимую множественную или тяжелую лекарственную аллергию, включая, но не ограничиваясь перечисленными, значительную многоформную эритему, линейный иммуноглобулин А-связанный дерматоз, токсический
20 эпидермальный некролиз или эксфолиативный дерматит.
- Имеют в анамнезе или текущую неконтролируемую астму, экзему, значительную атопию, значительный наследственный ангионевротический отек или общую переменную иммунную недостаточность.
- Использовали терапевтическую инъекцию (ботулинический токсин или
25 кортикостероиды) в течение 3 месяцев до начала периода вымывания;
- Имеют в анамнезе или текущий остеопоротический компрессионный перелом; недавно перенесли обширную травму (в течение 6 месяцев после V3);
- Перенесли хирургическое вмешательство для лечения боли в пояснице за последние 6 месяцев.
- Репродуктивные: они представляют собой женщин, которые беременны или кормят грудью.
- Предшествующая/сопутствующая терапия: они получали какие-либо антитела против фактора роста нервов (NGF) или антитела против EGFR, или ингибиторы тирозинкиназы EGFR; наличие в анамнезе аллергических реакций на

моноклональные антитела или клинически значимой множественной или тяжелой лекарственной аллергии, включая, но не ограничиваясь перечисленными, значительную многоформную эритему, линейный иммуноглобулин А-связанный дерматоз, токсический эпидермальный некролиз или эксфолиативный дерматит; имеют в анамнезе или текущую неконтролируемую астму, экзему, значительную атопию, значительный наследственный ангионевротический отек или общую

Оценки и процедуры исследования:

Фармакокинетика: Образцы венозной крови объемом приблизительно 4 мл будут собраны для измерения концентраций Антитела I. Образцы будут использоваться для оценки ФК Антитела I. Персонал центра будет регистрировать дату и время (в 24-часовом формате) введения Антитела I (начало и конец инфузии), а также дату и время (в 24-часовом формате) каждого ФК образца.

Фармакодинамика: Образцы венозной крови объемом приблизительно 4 мл каждый будут собраны для измерения эфирегулина. Любые оставшиеся образцы крови можно использовать для исследования других потенциальных конечных точек ФД, включая, но не ограничиваясь этим, TGF- α .

Оценки иммуногенности: Иммуногенность будет оцениваться с помощью валидированного анализа, предназначенного для детектирования ADA в присутствии Антитела I, в лаборатории, одобренной спонсором. Антитела могут быть дополнительно охарактеризованы по их способности нейтрализовать активность Антитела I. Во время указанных визитов и временных точек перед введением дозы будут собраны образцы венозной крови для определения продукции антител против Антитела I. Фактическая дата и время (24-часовой формат) каждого сбора образцов будет регистрироваться. Если образец для оценки иммуногенности во время последней запланированной оценки или визита в связи с прекращением лечения является положительным в отношении возникших во время лечения (TE) антител к лекарственному средству (ADA), могут быть взяты дополнительные образцы до тех пор, пока сигнал не вернется к исходному уровню (т. е. перестанет быть положительным на TE-ADA) или до 1 года после введения последней дозы. Чтобы облегчить интерпретацию этих результатов, образец крови перед введением дозы для анализа ФК будет взят в те же моменты времени.

Статистические гипотезы:

Байесовский критический фактор успеха (CSF) определяется и используется для оценки того, достигло ли Антитело I своей первичной конечной точки. CSF будет оцениваться для первичной конечной точки эффективности, средней интенсивности боли,

измеренной с помощью NRS, с использованием методологии, описанной в настоящей заявке и известной специалисту в данной области техники, и будет рассчитываться по завершении двойной слепой части каждого исследования. CSF будет иметь общий вид: вероятность (эффект лечения < эффект, представляющий интерес) > порог вероятности.

- 5 Эффект лечения будет определяться как оценка Антитела I – оценка плацебо изменения по сравнению с исходным уровнем в конечной точке. Эффект, представляющий интерес, обычно обнаруживается с помощью поиска литературы или клинического суждения. Порог вероятности обычно устанавливается так, чтобы иметь желаемый уровень уверенности в эффекте лечения или иметь желаемые рабочие характеристики при ряде
- 10 правдоподобных предполагаемых сценариев эффекта лекарственного средства, включая нулевой эффект. Дополнительные гипотезы будут включать сравнение активного вмешательства с плацебо для заранее указанных целей и конечных точек, определенных в настоящей заявке. Исследование может быть проведено в соответствии с протоколом, в котором предполагается несколько исследований, а данные о плацебо могут быть общими
- 15 по мере необходимости.

- Критерий принятия решения для первичной гипотезы определяется как по меньшей мере 70% уверенность в том, что Антитело I по меньшей мере на 0,55 единицы превосходит плацебо в отношении средней интенсивности боли, измеренной с помощью NRS. Ключевая вторичная нулевая гипотеза заключается в отсутствии различия между
- 20 Антителом I и плацебо по ключевой вторичной конечной точке, среднему изменению от исходного уровня до конечной точки для соответствующей оценки боли. Критерий принятия решения для ключевой вторичной гипотезы определяется как по меньшей мере 70% уверенность в том, что Антитело I по меньшей мере на 0,35 единицы превосходит плацебо для соответствующей оценки боли.

- 25 Популяции для анализов: Фармакокинетическая популяция включает, например, всех рандомизированных участников, которые получили полную дозу Антитела I во время визита 3 и у которых был собран по меньшей мере 1 подлежащий оценке ФК образец до введения дозы во время визита 4 или после него.

Перечень последовательностей аминокислот и нуклеиновых кислот

CDR тяжелой цепи

SEQ ID NO: 1 GYTFTDAYIN
SEQ ID NO: 2 WIWPGPVITYYNNPKFKG
5 SEQ ID NO: 3 REVLSPFAY

CDR легкой цепи

SEQ ID NO: 4 RSSQSIVHSTGNTYLE
SEQ ID NO: 5 KVSNNRFS
SEQ ID NO: 6 FHGTHVPYT

10 Вариабельные области тяжелой цепи

SEQ ID NO: 7 (Антитело I и Антитело II)

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFTDAYINWVRQAPGQGLEWMGWIWPGPVI
TYNNPKFKGRVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCARREVLSPFAYWGQGTTVT
VSS

15 SEQ ID NO: 8 (Антитело III)

QVQLQQSGPELVKPGASVKISCKASGYTFTDAYINWVKQRPGQGLEWIGWIWPGPVITY
YNNPKFKGKATLTVDKSSSTAYMLLSSLTSEDSAFYFCARREVLSPFAYWGQGTLLTVSA

Вариабельные области легкой цепи

SEQ ID NO: 9 (Антитело I)

20 DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCRSSQSIVHSTGNTYLEWYQQKPGQPPKLLIYKVSNNRF
SGVPDRFSGSGSGTDFTLTISLQAEDVAVYYCFHGTHVPYTFGGGTKVEIK

SEQ ID NO: 10 (Антитело II)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVITICRSSQSIVHSTGNTYLEWYQQKPGKAPKLLIYKVSNNRF
SGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCFHGTHVPYTFGGGTKVEIK

25 SEQ ID NO: 11 (Антитело III)

DVLMTQTPLSLPVSLGDQASISCRSSQSIVHSTGNTYLEWYLQKPGQSPKLLIYKVSNNRF
SGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGVYYCFHGTHVPYTFGGGTKLEIK

Полная тяжелая цепь

SEQ ID NO: 12 (Антитело I и Антитело II)

30 QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFTDAYINWVRQAPGQGLEWMGWIWPGPVI
TYNNPKFKGRVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCARREVLSPFAYWGQGTTVT
VSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL
QSSGLYSLSSVVTVPSSSLGKTYTCNVDPKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEAAG
GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ
35 FNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPS

QEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVD
KSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLG

Полные легкие цепи

SEQ ID NO: 13 (Антитело I)

5 DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCRSSQSIVHSTGNTYLEWYQQKPGQPPKLLIYKVSNR
SGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCFHGTHVPYTFGGGTKVEIKRTVAAPSV
FIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDS
TYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

SEQ ID NO: 14 (Антитело II)

10 DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRSSQSIVHSTGNTYLEWYQQKPGKAPKLLIYKVS
NRFSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCFHGTHVPYTFGGGTKVEIKRT
VAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQ
DSKDSYSTLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

Нуклеотидные последовательности

15 Вариабельная область тяжелой цепи

SEQ ID NO: 15

CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGTCCTCAGTGAA
GGTTTCCTGCAAGGCATCTGGCTACACCTTCACTGACGCGTATATAAACTGGGTGCG
ACAGGCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATGGGATGGATTTGGCCTGGACCCGTTA
20 TTA CT TACTACAATCCGAAGTTCAAGGGCAGAGTCACCATTACCGCGGACAAATCCA
CGAGCACAGCCTACATGGAGCTGAGCAGCCTGAGATCTGAGGACACGGCCGTGTAT
TACTGTGCGAGAAGGGAAGTACTATCCCCGTTTGCTTACTGGGGCCAAGGAACCAC
GGTCACCGTCTCCTCA

Нуклеотидные последовательности

25 Вариабельные области легкой цепи

SEQ ID NO: 16

GACATCGTGATGACCCAGTCTCCAGACTCCCTGGCTGTGTCTCTGGGCGAGAGGGCC
ACCATCAACTGCAGATCTAGTCAGAGCATTGTACATAGTACTGGAAACACCTATTTA
GAATGGTACCAGCAGAAACCAGGACAGCCTCCTAAGCTGCTCATTTACAAAGTTTCC
30 AACCGATTTTCTGGGGTCCCTGACCGATTCAAGTGGCAGCGGGTCTGGGACAGATTTC
ACTCTCACCATCAGCAGCCTGCAGGCTGAAGATGTGGCAGTTTATTACTGTTTTTCA
GGCACTCATGTTCCGTACACGTTTCGGCGGAGGGACCAAGGTGGAGATCAAA

SEQ ID NO: 17

GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCTCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTC
35 ACCATCACTTGCAGATCTAGTCAGAGCATTGTACATAGTACTGGAAACACCTATTTA

GAATGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTAAGCTCCTGATCTATAAAGTTTC
CAACCGATTTTCTGGGGTCCCATCAAGGTTCAAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATT
CACTCTCACCATCAGCAGTCTGCAACCTGAAGATTTTGCAACTTACTACTGTTTTAC
GGCACTCATGTTCCGTACACGTTTCGGCGGAGGGACCAAGGTGGAGATCAAA

5 **Зрелый TGF-альфа человека**

SEQ ID NO: 18

VVSHFNDCPDSHTQFCFHGTCRFLVQEDKPACVCHSGYVGARCEHADLLA

Зрелый TGF-альфа мышцы (Mus musculus)

SEQ ID NO: 19

10 VVSHFNKCPDSHTQYCFHGTCTRFLVQEEKPACVCHSGYVGVRCCEHADLLA

Зрелый TGF-альфа крысы (Rattus norvegicus)

SEQ ID NO: 20

VVSHFNKCPDSHTQYCFHGTCTRFLVQEEKPACVCHSGYVGVRCCEHADLLA

Зрелый TGF-альфа яванской макаки (Macaca fascicularis)

15 SEQ ID NO: 21

VVSHFNDCPDSHTQFCFHGTCRFLVQEDKPACVCHSGYVGARCEHADLLA

Зрелый эпирегулин человека – добавление N-концевого метионина

SEQ ID NO: 22

MVSITKCSSDMNGYCLHGQCIYLVDMSQNYCRCEVGYTGVRCEHFFL

20 **Зрелый эпирегулин мышцы (Mus musculus) – добавление N-концевого метионина**

SEQ ID NO: 23

MVQITKCSSDMNGYCLHGQCIYLVDMREKFCRCEVGYTGVRCEHFFL

Зрелый эпирегулин яванской макаки (Macaca fascicularis)

SEQ ID NO: 24

25 VSITKCNDSMNGYCLHGQCIYLVDMSQNYCRCEVGYTGVRCEHFYL

Эпиген зрелого человека

SEQ ID NO: 25

AVTVTPPITAQQADNIEGPIALKFSLCLDHNSYCSINGACAFHHELEKAICRCFTGYTGE
RCEHLTLTSYA

30 **Зрелый эпиген мышцы (Mus musculus)**

SEQ ID NO: 26

LKFSHPCLDHNSYCSINGACAFHHELEKQAICRCFTGYTGQRCEHLTLTSYA

Зрелый EGF человека – добавление N-концевого метионина

SEQ ID NO: 27

35 MNSDSECPLSHDGYCLHDGVCMYIEALDKYACNCVVGYIGERCQYRDLKWWELR

Зрелый HBEGF человека

SEQ ID NO: 28

DLQEADLDLLRVTLSSKPQALATPNKEEHGKRKKKGKGLGKKRDPCLRKYKDFCIHGE
CKYVKELRAPSCICHPGYHGERCHGLSL

5 **Зрелый бетацеллюлин человека**

SEQ ID NO: 29

DGNSTRSPETNGLLCGDPEENCAATTTQSKRKGHFSRCPKQYKHICYKGRCRFVVAEQT
PSCVCDEGYIGARCERVDLFY

Зрелый амфирегулин человека

10 SEQ ID NO: 30

SVRVEQVVKPPQNKTESENTSDKPKRKKKGKNGKNRRNRKKKNPCNAEFQNFCIHGE
CKYIEHLEAVTCKCQQEYFGERCGEKSMKTHSMIDSSLSK

Полная тяжелая цепь Антитела III - мышинное антитело

SEQ ID NO: 31

15 QVQLQQSGPELVKPGASVKISCKASGYTFTDAYINWVKQRPGQGLEWIGWIWPGPVITY
YNPKFKGKATLTVDKSSSTAYMLLSSLTSEDSAFYFCARREVLSPFAYWGQGTLLTVSA
AKTTPPSVYPLAPGSAAQTNSMVTLGCLVKGYFPEPVTVTWNSGSLSSGVHTFPAVLQS
DLTYLSSSVTVPSSTWPSETVTCNVAHPASSTKVDKKIVPRDCGCKPCICTVPEVSSVFIF
PPKPKDVLITLTPKVTCTVVVDISKDDPEVQFSWFVDDVEVHTAQTQPREEQFNSTFRSV
20 SELPIMHQDWLNGKEFKCRVNSAAFPAPIEKTISKTKGRPKAPQVYTIPPPKEQMAKDK
VSLTCMITDFFPEDITVEWQWNGQPAENYKNTQPIMDTDGSYFVYSKLVQKSNWEAG
NTFTCSVLHEGLHNHHTKSLSHSPGK

Полная легкая цепь Антитела III - мышинное антитело

SEQ ID NO: 32

25 DVLMTQTPLSLPVSLGDQASISCRSSQSIVHSTGNTYLEWYLQKPGQSPKLLIYKVSNR
SGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGVYYCFHGTHVPYTFGGGTKLEIKRADAAPT
VSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSERQNGVLNSWTDQDSKDSTYS
MSSTLTTLTKDEYERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFNRNEC

Зрелый эпирегулин человека

30 SEQ ID NO: 33

VSITKCSSDMNGYCLHGQCIYLVDMSQNYCRCEVGYTGVRCEHFFL

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ лечения хронической боли у субъекта, нуждающегося в этом, включающий введение указанному субъекту терапевтически эффективного количества антитела, содержащего легкую цепь и тяжелую цепь, причем указанная легкая цепь содержит
5 переменную область легкой цепи (LCVR) и указанная тяжелая цепь содержит переменную область тяжелой цепи (HCVR), при этом указанная LCVR содержит аминокислотные последовательности LCDR1, LCDR2 и LCDR3, и указанная HCVR содержит аминокислотные последовательности HCDR1, HCDR2 и HCDR3, при этом LCDR1 представляет собой SEQ ID NO: 4, LCDR2 представляет собой SEQ ID NO: 5,
10 LCDR3 представляет собой SEQ ID NO: 6, HCDR1 представляет собой SEQ ID NO: 1, HCDR2 представляет собой SEQ ID NO: 2, и HCDR3 представляет собой SEQ ID NO: 3.
2. Способ лечения хронической боли при остеоартрите у субъекта, нуждающегося в этом, включающий введение указанному субъекту терапевтически эффективного количества антитела, содержащего легкую цепь и тяжелую цепь, причем указанная легкая
15 цепь содержит переменную область легкой цепи (LCVR), и указанная тяжелая цепь содержит переменную область тяжелой цепи (HCVR), при этом указанная LCVR содержит аминокислотные последовательности LCDR1, LCDR2 и LCDR3, и указанная HCVR содержит аминокислотные последовательности HCDR1, HCDR2 и HCDR3, при этом LCDR1 представляет собой SEQ ID NO: 4, LCDR2 представляет собой SEQ ID NO: 5,
20 LCDR3 представляет собой SEQ ID NO: 6, HCDR1 представляет собой SEQ ID NO: 1, HCDR2 представляет собой SEQ ID NO: 2, и HCDR3 представляет собой SEQ ID NO: 3.
3. Способ лечения хронической боли при диабетической периферической нейропатии у субъекта, нуждающегося в этом, включающий введение указанному субъекту терапевтически эффективного количества антитела, содержащего легкую цепь и тяжелую
25 цепь, причем указанная легкая цепь содержит переменную область легкой цепи (LCVR) и указанная тяжелая цепь содержит переменную область тяжелой цепи (HCVR), при этом указанная LCVR содержит аминокислотные последовательности LCDR1, LCDR2 и LCDR3, и указанная HCVR содержит аминокислотные последовательности HCDR1, HCDR2 и HCDR3, при этом LCDR1 представляет собой SEQ ID NO: 4, LCDR2
30 представляет собой SEQ ID NO: 5, LCDR3 представляет собой SEQ ID NO: 6, HCDR1 представляет собой SEQ ID NO: 1, HCDR2 представляет собой SEQ ID NO: 2, и HCDR3 представляет собой SEQ ID NO: 3.

4. Способ лечения хронической боли в пояснице у субъекта, нуждающегося в этом, включающий введение указанному субъекту терапевтически эффективного количества антитела, содержащего легкую цепь и тяжелую цепь, причем указанная легкая цепь содержит переменную область легкой цепи (LCVR) и указанная тяжелая цепь содержит переменную область тяжелой цепи (HCVR), при этом указанная LCVR содержит аминокислотные последовательности LCDR1, LCDR2 и LCDR3, и указанная HCVR содержит аминокислотные последовательности HCDR1, HCDR2 и HCDR3, при этом LCDR1 представляет собой SEQ ID NO: 4, LCDR2 представляет собой SEQ ID NO: 5, LCDR3 представляет собой SEQ ID NO: 6, HCDR1 представляет собой SEQ ID NO: 1, HCDR2 представляет собой SEQ ID NO: 2, и HCDR3 представляет собой SEQ ID NO: 3.
5. Способ по любому из пп. 1-4, отличающийся тем, что указанная аминокислотная последовательность LCVR представляет собой SEQ ID NO: 9 или SEQ ID NO: 10.
6. Способ по любому из пп. 1-4, отличающийся тем, что указанная аминокислотная последовательность HCVR представляет собой SEQ ID NO: 7.
7. Способ по любому из пп. 1-4, отличающийся тем, что указанная аминокислотная последовательность LCVR представляет собой SEQ ID NO: 9, и указанная аминокислотная последовательность HCVR представляет собой SEQ ID NO: 7.
8. Способ по любому из пп. 1-4, отличающийся тем, что указанная аминокислотная последовательность легкой цепи представляет собой SEQ ID NO: 13 или SEQ ID NO: 14.
9. Способ по любому из пп. 1-4, отличающийся тем, что указанная аминокислотная последовательность тяжелой цепи представляет собой SEQ ID NO: 12.
10. Способ по любому из пп. 1-4, отличающийся тем, что указанное антитело содержит две легкие цепи, причем указанная аминокислотная последовательность каждой легкой цепи представляет собой SEQ ID NO: 13, и две тяжелые цепи, причем указанная аминокислотная последовательность каждой тяжелой цепи представляет собой SEQ ID NO: 12.
11. Способ по любому из пп. 1-4, отличающийся тем, что указанное антитело содержит две легкие цепи, причем указанная аминокислотная последовательность каждой легкой цепи представляет собой SEQ ID NO: 14, и две тяжелые цепи, причем указанная аминокислотная последовательность каждой тяжелой цепи представляет собой SEQ ID NO: 12.

12. Способ по любому из пп. 1-4, отличающийся тем, что указанная доза антитела представляет собой начальную дозу 750 мг, за которой следует доза 500 мг каждые 2 недели до тех пор, пока пациент нуждается в лечении боли.
13. Способ по любому из пп. 1-4, отличающийся тем, что указанная хроническая боль рефрактерна к двум или более предшествующим режимам монотерапии и/или двойной терапии.
14. Антитело, содержащее легкую цепь и тяжелую цепь, причем указанная легкая цепь содержит вариабельную область легкой цепи (LCVR), и указанная тяжелая цепь содержит вариабельную область тяжелой цепи (HCVR), при этом указанная LCVR содержит аминокислотные последовательности LCDR1, LCDR2 и LCDR3, и указанная HCVR содержит аминокислотные последовательности HCDR1, HCDR2 и HCDR3, при этом LCDR1 представляет собой SEQ ID NO: 4, LCDR2 представляет собой SEQ ID NO: 5, LCDR3 представляет собой SEQ ID NO: 6, HCDR1 представляет собой SEQ ID NO: 1, HCDR2 представляет собой SEQ ID NO: 2, и HCDR3 представляет собой SEQ ID NO: 3, для применения при лечении хронической боли.
15. Антитело для применения по п. 14, отличающееся тем, что указанная хроническая боль выбрана из группы, состоящей из хронической боли при остеоартрите, хронической боли при диабетической нейропатии и хронической боли в пояснице.
16. Применение по пп. 14 или 15, отличающееся тем, что указанная аминокислотная последовательность LCVR представляет собой SEQ ID NO: 9 или SEQ ID NO: 10.
17. Применение по пп. 14 или 15, отличающееся тем, что указанная аминокислотная последовательность HCVR представляет собой SEQ ID NO: 7.
18. Применение по пп. 14 или 15, отличающееся тем, что указанная аминокислотная последовательность LCVR представляет собой SEQ ID NO: 9, и указанная аминокислотная последовательность HCVR представляет собой SEQ ID NO: 7.
19. Применение по п. 14, отличающееся тем, что указанная аминокислотная последовательность легкой цепи представляет собой SEQ ID NO: 13 или SEQ ID NO: 14.
20. Применение по п. 14, отличающееся тем, что указанная аминокислотная последовательность тяжелой цепи представляет собой SEQ ID NO: 12.
21. Применение по п. 14, включающее две легкие цепи, причем указанная аминокислотная последовательность каждой легкой цепи представляет собой SEQ ID NO:

13, и две тяжелые цепи, причем указанная аминокислотная последовательность каждой тяжелой цепи представляет собой SEQ ID NO: 12.

22. Применение по п. 14, включающее две легкие цепи, причем указанная аминокислотная последовательность каждой легкой цепи представляет собой SEQ ID NO:

5 14, и две тяжелые цепи, причем указанная аминокислотная последовательность каждой тяжелой цепи представляет собой SEQ ID NO: 12.

23. Применение по пункту и пп. 14-22, отличающееся тем, что указанная хроническая боль представляет собой хроническую боль при остеоартрите.

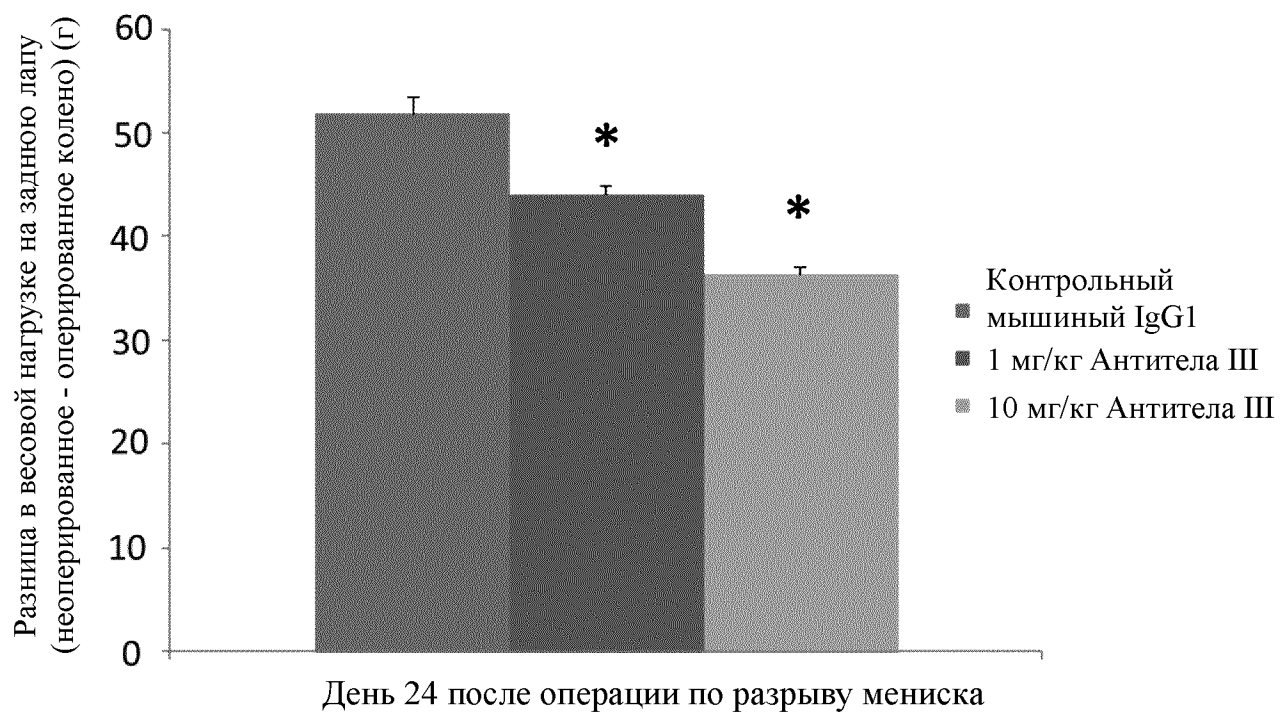
10 24. Применение по пункту и пп. 14-22, отличающееся тем, что указанная хроническая боль представляет собой хроническую боль при диабетической периферической нейропатии.

25. Применение по пункту и пп. 14-22, отличающееся тем, что указанная хроническая боль представляет собой хроническую боль в пояснице.

15 26. Применение по любому из пп. 14-25, отличающееся тем, что указанная доза антитела представляет собой начальную дозу 750 мг, за которой следует доза 500 мг каждые 2 недели до тех пор, пока пациент нуждается в лечении боли.

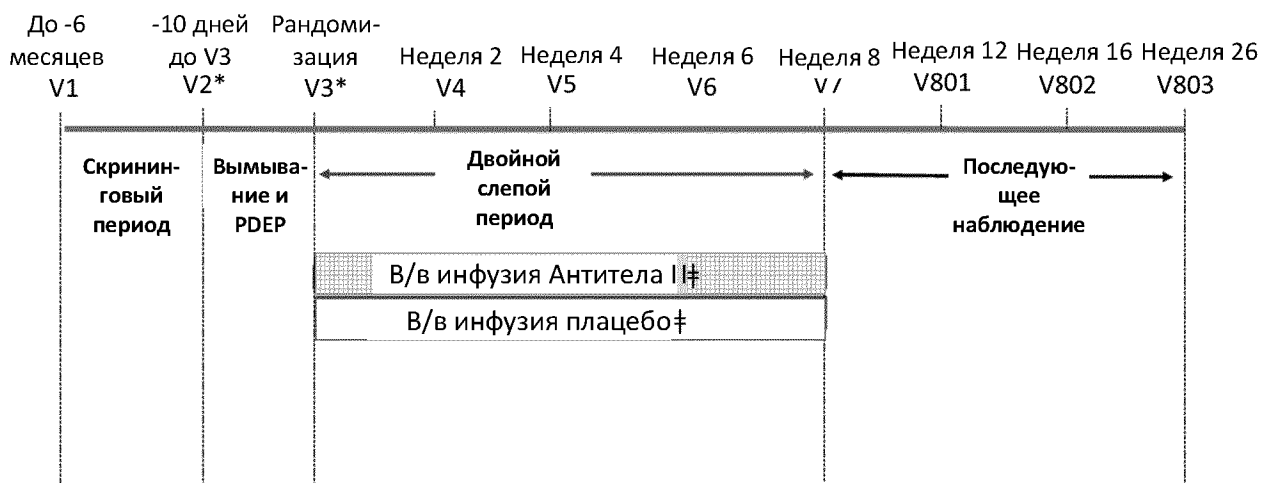
27. Применение по любому из пп. 14-25, отличающееся тем, что указанная хроническая боль рефрактерна к двум или более предшествующим режимам монотерапии и/или двойной терапии.

1/2



ФИГУРА 1

2/2



* Начинается период вымывания лекарственного средства и ввода предварительных данных

*^Рандомизация для получения Антитела I или плацебо

‡ Каждый участник получает 1-часовую инфузию во время визитов 3, 4, 5 и 6.

Сокращения: в/в = внутривенно; PDEP = период ввода предварительных данных; V = визит.

ФИГУРА 2