

(19)



**Евразийское  
патентное  
ведомство**

(21) **202392365** (13) **A1**

(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ**

(43) Дата публикации заявки  
**2023.11.22**

(22) Дата подачи заявки  
**2022.03.02**

(51) Int. Cl. *A61K 39/395* (2006.01)  
*C07K 16/24* (2006.01)  
*C12N 15/13* (2006.01)  
*A61P 37/02* (2006.01)

---

(54) **ФАРМАЦЕВТИЧЕСКАЯ КОМПОЗИЦИЯ, СОДЕРЖАЩАЯ АНТИТЕЛО К TSLP**

---

(31) **202110235660.8**

(32) **2021.03.03**

(33) **CN**

(86) **PCT/CN2022/078718**

(87) **WO 2022/184074 2022.09.09**

(71) Заявитель:

**ЧИА ТАЙ ТЯНЬЦИН  
ФАРМАСЬЮТИКАЛ ГРУП КО.,  
ЛТД. (CN)**

(72) Изобретатель:

**Кун Линцзе, Чэн Яньцзюй, Го Сяолу  
(CN)**

(74) Представитель:

**Харин А.В., Стойко Г.В., Буре Н.Н.,  
Галухина Д.В., Алексеев В.В. (RU)**

---

(57) Предложена фармацевтическая композиция, содержащая антитело к TSLP, и ее применение. В частности, предложена фармацевтическая композиция, содержащая (а) антитело к TSLP, (b) буфер, (с) поверхностно-активное вещество и один или более (d) стабилизаторов, и применение фармацевтической композиции для получения лекарственного средства для лечения и профилактики заболеваний, связанных с TSLP.

**A1**

**202392365**

**202392365**

**A1**

## ФАРМАЦЕВТИЧЕСКАЯ КОМПОЗИЦИЯ, СОДЕРЖАЩАЯ АНТИТЕЛО К TSLP

Все документы, цитируемые или упоминаемые в настоящей заявке (включая, но не ограничиваясь ими, документы, патенты, патентные заявки), и все документы, цитируемые или упоминаемые в документах, цитируемых в настоящей заявке, а также любые инструкции производителя, описания, спецификации продукта и паспорт продукта для любых продуктов, упомянутых в настоящей заявке или любом документе, включенном посредством ссылки, включены посредством ссылки и могут быть использованы при осуществлении настоящего изобретения. Более конкретно, все ссылки, цитируемые в настоящем документе, включены посредством ссылки в той же степени, как если бы каждая ссылка была конкретно и индивидуально указана для включения посредством ссылки в настоящую заявку. Кроме того, в любой стране или регионе любая ссылка на эти публикации в настоящем документе не должна толковаться как признание того, что эти публикации являются частью общепризнанных знаний в данной области техники.

### ОБЛАСТЬ ТЕХНИКИ

Настоящее изобретение относится к области фармацевтических составов, и, в частности, настоящее изобретение относится к стабильной фармацевтической композиции, содержащей антитело к TSLP. Альтернативно, настоящее изобретение относится к стабильной фармацевтической композиции, содержащей антитело к TSLP в высокой концентрации.

### УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

Тимический стромальный лимфопоэтин (TSLP) представляет собой цитокин, продуцируемый из эпителиальных клеток. Он тесно связан с IL-7 и связывается с TSLPR (гетеродимер  $\alpha$ -цепи рецептора IL-7 и рецепторной цепи TSLP). TSLP индуцирует поляризацию DC-клеток (дендритных клеток) во время фазы индукции иммунного ответа, способствует дифференцировке хелперных Т-клеток (Th)2 и выработке цитокинов Th2, и, кроме того, TSLP также может непосредственно способствовать пролиферации Т-клеток и

увеличению секреции цитокинов Th2. Таким образом, TSLP считается основным регулятором воспаления, вызванного Th2, и повышение уровня TSLP связано с патогенезом заболеваний, связанных с клетками Th2, таких как атопический дерматит и астма (Rui He et al., (2010) выше; Ito T et al., (2005) *The Journal of Experimental Medicine* 202(9): 1213-1223; He R et al., (2008) *Proc Natl Acad Sci USA* 105(33): 11875-11880). В другом аспекте TSLP опосредует несколько иммунных гомеостазов в кишечнике и тимусе. Например, при бактериальной стимуляции TSLP активируется штаммовозависимым образом в линии эпителиальных клеток кишечника, действуя синергетически с трансформирующим фактором роста  $\beta$  для содействия дифференцировке Treg-клеток. TSLP также может быть получена из первичных кишечных эпителиальных клеток человека для модуляции клеток CD103<sup>+</sup> DC с образованием толерогенного фенотипа (Katerina Tsilingiri et al., (2017) *Cellular and Molecular Gastroenterology and Hepatology* 3(2): 174-182; Zeuthen LH et al., (2008) *Immunology* 123: 197-208; Iliev ID et al., (2009) *Gut* 58:1481–1489).

Двойная роль TSLP в иммунной системе приводит к открытию двух изоформ, длинной изоформы и короткой изоформы, где короткая изоформа состоит из последних 63 аминокислотных остатков более длинной изоформы. Эти две изоформы контролируются различными промоторами и экспрессируются в зависимости от окружающей среды, ткани и стимула (Harada M et al., (2011) *American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology* 44:787–793). Экспрессия длинной изоформы повышалась, в то время как экспрессия короткой изоформы снижалась в эпителиальных клетках кишечника человека в ответ на высокоиммуногенные микробные штаммы, тогда как противоположная картина экспрессии наблюдалась после заражения комменсальным штаммом *E. coli*. Характер экспрессии изоформ TSLP также изучался при нескольких заболеваниях, связанных с TSLP. Например, сверхэкспрессия длинной TSLP наблюдается при астме, язвенном колите, атопическом дерматите и псориазе, в то время как снижение экспрессии длинной TSLP наблюдается при индуцированной глютеном энтеропатии. Экспрессия короткой TSLP подавляется при болезни Крона, индуцированной глютеном энтеропатии и атопическом дерматите (Katerina Tsilingiri et al., (2017) выше; Fornasa G et al., (2015) *J Allergy Clin Immunol* 136:413–422).

TSLP становится клинической мишенью из-за его соответствия различным заболеваниям. Будет расти число разрабатываемых и применяемых антител к TSLP. Следовательно, в данной области техники существует необходимость в разработке фармацевтической композиции, содержащей антитело к TSLP, чтобы антитело к TSLP было подходящим для получения и введения пациентам и сохраняло биологическую активность и стабильность во время хранения и последующего применения.

#### КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Настоящее изобретение относится к фармацевтической композиции, содержащей антитело к TSLP, причем фармацевтическая композиция способна достигать стабильного действия и, таким образом, пригодна для введения субъекту.

В частности, в настоящем изобретении предложена фармацевтическая композиция, содержащая антитело к TSLP, такое как: (i) фармацевтическая композиция, способная ингибировать образование высокомолекулярных примесей; (ii) фармацевтическая композиция, способная ингибировать продуцирование заряженных вариантов; (iii) фармацевтическая композиция, способная поддерживать биологическую активность антитела; и/или (iv) фармацевтическая композиция, способная снижать повышенную вязкость, когда антитело имеет относительно высокую концентрацию.

Настоящее изобретение относится к фармацевтической композиции, содержащей: (a) антитело к TSLP, (b) буферный агент, (c) поверхностно-активное вещество и один или более (d) стабилизаторов.

В некоторых вариантах реализации изобретения антитело к TSLP в вышеупомянутой фармацевтической композиции имеет концентрацию 30-300 мг/мл, предпочтительно 50-250 мг/мл, предпочтительно 70-200 мг/мл, более предпочтительно 90-150 мг/мл. В некоторых вариантах реализации изобретения антитело к TSLP в вышеупомянутой фармацевтической композиции имеет концентрацию около 120 мг/мл. В некоторых вариантах реализации изобретения антитело к TSLP в вышеупомянутой фармацевтической композиции имеет концентрацию около 130 мг/мл. В некоторых вариантах реализации изобретения антитело к TSLP в вышеупомянутой фармацевтической композиции имеет концентрацию около 140 мг/мл. В некоторых

вариантах реализации изобретения антитело к TSLP в вышеупомянутой фармацевтической композиции имеет концентрацию около 150 мг/мл. В некоторых вариантах реализации изобретения антитело к TSLP в вышеупомянутой фармацевтической композиции имеет концентрацию, включающую, но не ограничиваясь этим: около 90 мг/мл, около 100 мг/мл, около 110 мг/мл, около 115 мг/мл, около 120 мг/мл, около 125 мг/мл, около 130 мг/мл, около 135 мг/мл, около 140 мг/мл, около 145 мг/мл или около 150 мг/мл.

В некоторых вариантах реализации буферный агент в вышеупомянутой фармацевтической композиции содержит фосфатный буферный агент, гистидиновый буферный агент, ацетатный буферный агент или цитратный буферный агент и т.д. В некоторых вариантах реализации буферный агент в вышеупомянутой фармацевтической композиции содержит фосфатный буферный агент. В некоторых вариантах реализации буферный агент в вышеупомянутой фармацевтической композиции содержит ацетатный буферный агент. Предпочтительно буферный агент в вышеупомянутой фармацевтической композиции содержит гистидиновый буферный агент.

В некоторых конкретных вариантах реализации фосфатный буферный агент включает натрий-фосфатный буферный агент или калий-фосфатный буферный агент, ацетатный буферный агент включает натрий-ацетатный буферный агент, калий-ацетатный буферный агент или аммоний-ацетатный буферный агент, и цитратный буферный агент включает натрий-цитратный буферный агент, калий-цитратный буферный агент или кальций-цитратный буферный агент. В некоторых вариантах реализации буферный агент в вышеупомянутой фармацевтической композиции включает натрий-фосфатный буферный агент, например, натрий-фосфатный буферный агент, состоящий из динатрия гидрофосфата и натрия дигидрофосфата. В некоторых вариантах реализации буферный агент в вышеупомянутой фармацевтической композиции включает натрий-ацетатный буферный агент, например, натрий-ацетатный буферный агент, состоящий из ацетата натрия и уксусной кислоты. В некоторых вариантах реализации буферный агент в вышеупомянутой фармацевтической композиции включает натрий-цитратный буферный агент, например, натрий-цитратный буферный агент, состоящий из лимонной кислоты и цитрата натрия.

В некоторых вариантах реализации буферный агент в вышеупомянутой фармацевтической композиции имеет концентрацию 1-100 мМ, предпочтительно 2-80 мМ, предпочтительно 5-60 мМ, более предпочтительно 10-40 мМ. В некоторых вариантах реализации буферный агент в вышеупомянутой фармацевтической композиции имеет концентрацию около 10 мМ. В некоторых вариантах реализации буферный агент в вышеупомянутой фармацевтической композиции имеет концентрацию около 18 мМ. В некоторых вариантах реализации буферный агент в вышеупомянутой фармацевтической композиции имеет концентрацию около 20 мМ. В некоторых вариантах реализации буферный агент в вышеупомянутой фармацевтической композиции имеет концентрацию около 22 мМ. В некоторых вариантах осуществления буферный агент в вышеупомянутой фармацевтической композиции имеет концентрацию, включающую, но не ограничиваясь этим: около 10 мМ, около 11 мМ, около 12 мМ, около 13 мМ, около 14 мМ, около 15 мМ, около 16 мМ, около 17 мМ, около 18 мМ, около 19 мМ, около 20 мМ, около 21 мМ, около 22 мМ, около 23 мМ, около 24 мМ, около 25 мМ, около 26 мМ, около 27 мМ, около 28 мМ, около 30 мМ, около 32 мМ, около 34 мМ, около 36 мМ, около 38 мМ или около 40 мМ.

В некоторых вариантах реализации буферный агент в вышеупомянутой фармацевтической композиции имеет рН от 5 до 7, предпочтительно 5,5-7, более предпочтительно 5,5-6,5. В некоторых вариантах реализации буферный агент в вышеупомянутой фармацевтической композиции имеет рН около 5,6. В некоторых вариантах реализации буферный агент в вышеупомянутой фармацевтической композиции имеет рН около 5,8. В некоторых вариантах реализации буферный агент в вышеупомянутой фармацевтической композиции имеет рН около 6. В некоторых вариантах реализации буферный агент в вышеупомянутой фармацевтической композиции имеет рН, включающий, но не ограничивающийся ими: около 5, около 5,1, около 5,2, около 5,3, около 5,4, около 5,5, около 5,6, около 5,7, около 5,8, около 5,9, около 6, около 6,1, около 6,2, около 6,3, около 6,4 или около 6,5.

В некоторых вариантах реализации поверхностно-активное вещество в вышеупомянутой фармацевтической композиции выбрано из полисорбатов (например, полисорбата 20, полисорбата 40, полисорбата 60, полисорбата 65, полисорбата 80,

полисорбата 81, полисорбата 85), полоксамеров (например, полоксамера 181, полоксамера 188, полоксамера 407), полиэтиленгликолей, полоксамеров и тому подобного. В некоторых вариантах реализации поверхностно-активное вещество в вышеупомянутой фармацевтической композиции представляет собой полисорбат 80. В некоторых вариантах реализации поверхностно-активное вещество в вышеупомянутой фармацевтической композиции представляет собой полисорбат 20.

В некоторых вариантах реализации поверхностно-активное вещество в вышеупомянутой фармацевтической композиции имеет концентрацию 0,001-0,1% (мас./об.), предпочтительно 0,004-0,08% (мас./об.), предпочтительно 0,006-0,06% (мас./об.), более предпочтительно 0,008-0,04% (мас./об.). В некоторых вариантах реализации поверхностно-активное вещество в вышеупомянутой фармацевтической композиции имеет концентрацию около 0,01% (мас./об.). В некоторых вариантах реализации поверхностно-активное вещество в вышеупомянутой фармацевтической композиции имеет концентрацию около 0,02% (мас./об.). В некоторых вариантах реализации поверхностно-активное вещество в вышеупомянутой фармацевтической композиции имеет концентрацию около 0,04% (мас./об.). В некоторых вариантах реализации поверхностно-активное вещество в вышеупомянутой фармацевтической композиции имеет концентрацию, включающую, но не ограничиваясь этим: около 0,008% (мас./об.), около 0,009% (мас./об.), около 0,01% (мас./об.), около 0,02% (мас./об.), около 0,03% (мас./об.), около 0,04% (мас./об.), около 0,05% (мас./об.) или около 0,06% (мас./об.).

В некоторых вариантах реализации стабилизатор в вышеупомянутой фармацевтической композиции содержит трегалозу, маннит, сахарозу, аргинин или его фармацевтически приемлемую соль, глицин или пролин. В некоторых вариантах реализации стабилизатор в вышеупомянутой фармацевтической композиции содержит маннит. В некоторых вариантах реализации стабилизатор в вышеупомянутой фармацевтической композиции содержит аргинин. В некоторых вариантах реализации стабилизатор в вышеупомянутой фармацевтической композиции содержит пролин. В некоторых вариантах осуществления вышеупомянутая фармацевтическая композиция содержит два стабилизатора, такие как сахароза и пролин. Аргинин или его фармацевтически приемлемая соль содержит аргинин, гидрохлорид аргинина или ацетат

аргинина и т.д.

В некоторых вариантах осуществления стабилизатор в вышеупомянутой фармацевтической композиции имеет концентрацию 100-1000 мМ, 120-800 мМ, предпочтительно 150-700 мМ, более предпочтительно 150-600 мМ. В некоторых вариантах реализации стабилизатор в вышеупомянутой фармацевтической композиции имеет концентрацию около 200 мМ. В некоторых вариантах реализации стабилизатор в вышеупомянутой фармацевтической композиции имеет концентрацию около 250 мМ. В некоторых вариантах реализации стабилизатор в вышеупомянутой фармацевтической композиции имеет концентрацию около 400 мМ. В некоторых вариантах реализации стабилизатор в вышеупомянутой фармацевтической композиции имеет концентрацию около 500 мМ. В некоторых вариантах осуществления стабилизатор в вышеупомянутой фармацевтической композиции имеет концентрацию, включающую, но не ограничиваясь этим: около 120 мМ, около 150 мМ, около 200 мМ, около 210 мМ, около 230 мМ, около 250 мМ, около 270 мМ, около 290 мМ, около 300 мМ, около 310 мМ, около 330 мМ, около 350 мМ, около 370 мМ, около 380 мМ, около 390 мМ, около 400 мМ, около 410 мМ, около 420 мМ, около 430 мМ, около 450 мМ, около 470 мМ, около 490 мМ, около 500 мМ, около 510 мМ, около 530 мМ, около 550 мМ, около 570 мМ или около 600 мМ.

В некоторых вариантах осуществления вышеупомянутая фармацевтическая композиция имеет рН от 5 до 7, предпочтительно 5,5-7, более предпочтительно 5,5-6,5. В некоторых вариантах осуществления вышеупомянутая фармацевтическая композиция имеет рН около 5,6. В некоторых вариантах осуществления вышеупомянутая фармацевтическая композиция имеет рН около 5,8. В некоторых вариантах осуществления вышеупомянутая фармацевтическая композиция имеет рН около 6. В некоторых вариантах осуществления вышеупомянутая фармацевтическая композиция имеет рН, включая, но не ограничиваясь ими: около 5, около 5,1, около 5,2, около 5,3, около 5,4, около 5,5, около 5,6, около 5,7, около 5,8, около 5,9, около 6, около 6,1, около 6,2, около 6,3, около 6,4 или около 6,5.

В некоторых вариантах осуществления вышеупомянутая фармацевтическая композиция содержит: (а) от около 30 до около 300 мг/мл антитела к TSLP, (b) от около 1 до около 100 мМ буферного агента, (с) от около 0,001 до около 0,1% (мас./об.)

поверхностно-активного вещества и один или более (d) от около 100 до около 1000 мМ стабилизаторов; причем фармацевтическая композиция имеет рН от около 5 до около 7, предпочтительно от около 5,5 до около 7, более предпочтительно от около 5,5 до около 6,5.

В некоторых вариантах осуществления вышеупомянутая фармацевтическая композиция содержит: (a) от около 50 до около 250 мг/мл антитела к TSLP, (b) от около 2 до около 80 мМ буферного агента, (c) от около 0,004 до около 0,08% (мас./об.) поверхностно-активного вещества и один или более (d) от около 120 до около 800 мМ стабилизаторов; причем фармацевтическая композиция имеет рН от около 5 до около 7, предпочтительно от около 5,5 до около 7, более предпочтительно от около 5,5 до около 6,5.

В некоторых вариантах осуществления вышеупомянутая фармацевтическая композиция содержит: (a) от около 70 до около 200 мг/мл антитела к TSLP, (b) от около 5 до около 60 мМ буферного агента, (c) от около 0,006 до около 0,06% (мас./об.) поверхностно-активного вещества и один или более (d) от около 150 до около 700 мМ стабилизаторов; причем фармацевтическая композиция имеет рН от около 5 до около 7, предпочтительно от около 5,5 до около 7, более предпочтительно от около 5,5 до около 6,5.

В некоторых вариантах осуществления вышеупомянутая фармацевтическая композиция содержит: (a) от около 90 до около 150 мг/мл антитела к TSLP, (b) от около 10 до около 40 мМ буферного агента, (c) от около 0,008 до около 0,04% (мас./об.) поверхностно-активного вещества и один или более (d) от около 150 до около 600 мМ стабилизаторов; причем фармацевтическая композиция имеет рН от около 5 до около 7, предпочтительно от около 5,5 до около 7, более предпочтительно от около 5,5 до около 6,5.

В некоторых вариантах осуществления вышеупомянутая фармацевтическая композиция содержит: (a) от около 120 до около 150 мг/мл антитела к TSLP, (b) от около 10 до около 40 буферного агента, (c) от около 0,008 до около 0,04% (мас./об.) поверхностно-активного вещества и один или более (d) от около 150 до около 600 мМ стабилизаторов; причем фармацевтическая композиция имеет рН от около 5 до около 7,

предпочтительно от около 5,5 до около 7, более предпочтительно от около 5,5 до около 6,5.

В некоторых вариантах осуществления вышеупомянутая фармацевтическая композиция содержит: (a) от около 30 мг/мл до около 300 мг/мл антитела к TSLP, (b) от около 1 мМ до около 100 мМ фосфатного буферного агента, гистидинового буферного агента или ацетатного буферного агента, (c) от около 0,001 до около 0,1% (мас./об.) полисорбата 20 или полисорбата 80 и (d) от около 100 мМ до около 1000 мМ трегалозы, маннита или сахарозы и/или от около 100 мМ до около 1000 мМ аргинина или его фармацевтически приемлемой соли, глицина или пролина; причем фармацевтическая композиция имеет рН от около 5 до около 7, предпочтительно от около 5,5 до около 7, более предпочтительно от около 5,5 до около 6,5.

В некоторых вариантах осуществления вышеупомянутая фармацевтическая композиция содержит: (a) от около 50 мг/мл до около 250 мг/мл антитела к TSLP, (b) от около 2 мМ до около 80 мМ фосфатного буферного агента, гистидинового буферного агента или ацетатного буферного агента, (c) от около 0,004 до около 0,08% (мас./об.) полисорбата 20 или полисорбата 80 и (d) от около 120 мМ до около 800 мМ трегалозы, маннита или сахарозы и/или от около 120 мМ до около 800 мМ аргинина или его фармацевтически приемлемой соли, глицина или пролина; причем фармацевтическая композиция имеет рН от около 5 до около 7, предпочтительно от около 5,5 до около 7, более предпочтительно от около 5,5 до около 6,5.

В некоторых вариантах осуществления вышеупомянутая фармацевтическая композиция содержит: (a) от около 70 мг/мл до около 200 мг/мл антитела к TSLP, (b) от около 5 мМ до около 60 мМ фосфатного буферного агента, гистидинового буферного агента или ацетатного буферного агента, (c) от около 0,006 до около 0,06% (мас./об.) полисорбата 20 или полисорбата 80 и (d) от около 150 мМ до около 700 мМ трегалозы, маннита или сахарозы и/или от около 150 мМ до около 700 мМ аргинина или его фармацевтически приемлемой соли, глицина или пролина; причем фармацевтическая композиция имеет рН от около 5 до около 7, предпочтительно от около 5,5 до около 7, более предпочтительно от около 5,5 до около 6,5.

В некоторых вариантах осуществления вышеупомянутая фармацевтическая

композиция содержит: (a) от около 90 мг/мл до около 150 мг/мл антитела к TSLP, (b) от около 10 мМ до около 40 мМ фосфатного буферного агента, гистидинового буферного агента или ацетатного буферного агента, (c) от около 0,008 до около 0,04% (мас./об.) полисорбата 20 или полисорбата 80 и (d) от около 150 мМ до около 600 мМ трегалозы, маннита или сахарозы и/или от около 150 мМ до около 600 мМ аргинина или его фармацевтически приемлемой соли, глицина или пролина; где фармацевтическая композиция имеет рН от около 5 до около 7, предпочтительно от около 5,5 до около 7, более предпочтительно от около 5,5 до около 6,5.

В некоторых вариантах осуществления вышеупомянутая фармацевтическая композиция содержит: (a) от около 120 мг/мл до около 150 мг/мл антитела к TSLP, (b) от около 10 мМ до около 40 мМ фосфатного буферного агента, гистидинового буферного агента или ацетатного буферного агента, (c) от около 0,008 до около 0,04% (мас./об.) полисорбата 20 или полисорбата 80 и (d) от около 150 мМ до около 600 мМ трегалозы, маннита или сахарозы и/или от около 150 мМ до около 600 мМ аргинина или его фармацевтически приемлемой соли, глицина или пролина; где фармацевтическая композиция имеет рН от около 5 до около 7, предпочтительно от около 5,5 до около 7, более предпочтительно от около 5,5 до около 6,5.

В некоторых вариантах осуществления вышеупомянутая фармацевтическая композиция содержит: (a) от около 30 мг/мл до около 300 мг/мл антитела к TSLP, (b) от около 1 мМ до около 100 мМ натрий-фосфатного буферного агента, гистидинового буферного агента или натрий-ацетатного буферного агента, (c) от около 0,001 до около 0,1% (мас./об.) полисорбата 80 и (d) от около 100 мМ до около 1000 мМ маннита и/или от около 100 мМ до около 1000 мМ аргинина или его фармацевтически приемлемой соли или пролина; где фармацевтическая композиция имеет рН от около 5 до около 7, предпочтительно от около 5,5 до около 7, более предпочтительно от около 5,5 до около 6,5.

В некоторых вариантах осуществления вышеупомянутая фармацевтическая композиция содержит: (a) от около 50 мг/мл до около 250 мг/мл антитела к TSLP, (b) от около 2 мМ до около 80 мМ натрий-фосфатного буферного агента, гистидинового буферного агента или натрий-ацетатного буферного агента, (c) от около 0,004 до около

0,08% (мас./об.) полисорбата 80 и (d) от около 120 мМ до около 800 мМ маннита; и/или от около 120 мМ до около 800 мМ аргинина или его фармацевтически приемлемой соли или пролина; где фармацевтическая композиция имеет рН от около 5 до около 7, предпочтительно от около 5,5 до около 7, более предпочтительно от около 5,5 до около 6,5.

В некоторых вариантах осуществления вышеупомянутая фармацевтическая композиция содержит: (a) от около 70 мг/мл до около 200 мг/мл антитела к TSLP, (b) от около 5 мМ до около 60 мМ натрий-фосфатного буферного агента, гистидинового буферного агента или натрий-ацетатного буферного агента, (c) от около 0,006 до около 0,06% (мас./об.) полисорбата 80 и (d) от около 150 мМ до около 700 мМ маннита и/или от около 150 мМ до около 700 мМ аргинина или его фармацевтически приемлемой соли или пролина; где фармацевтическая композиция имеет рН от около 5 до около 7, предпочтительно от около 5,5 до около 7, более предпочтительно от около 5,5 до около 6,5.

В некоторых вариантах осуществления вышеупомянутая фармацевтическая композиция содержит: (a) от около 90 мг/мл до около 150 мг/мл антитела к TSLP, (b) от около 10 мМ до около 40 мМ натрий-фосфатного буферного агента, гистидинового буферного агента или натрий-ацетатного буферного агента, (c) от около 0,008 до около 0,04% (мас./об.) полисорбата 80 и (d) от около 150 мМ до около 600 мМ маннита и/или от около 150 мМ до около 600 мМ аргинина или его фармацевтически приемлемой соли или пролина; где фармацевтическая композиция имеет рН от около 5 до около 7, предпочтительно от около 5,5 до около 7, более предпочтительно от около 5,5 до около 6,5.

В некоторых вариантах осуществления вышеупомянутая фармацевтическая композиция содержит: (a) от около 120 мг/мл до около 150 мг/мл антитела к TSLP, (b) от около 10 мМ до около 40 мМ натрий-фосфатного буферного агента, гистидинового буферного агента или натрий-ацетатного буферного агента, (c) от около 0,008 до около 0,04% (мас./об.) полисорбата 80 и (d) от около 150 мМ до около 600 мМ маннита и/или от около 150 мМ до около 600 мМ аргинина или его фармацевтически приемлемой соли или пролина; где фармацевтическая композиция имеет рН от около 5 до около 7,

предпочтительно от около 5,5 до около 7, более предпочтительно от около 5,5 до около 6,5.

В некоторых вариантах осуществления вышеупомянутая фармацевтическая композиция содержит: (а) от около 120 мг/мл до около 150 мг/мл антитела к TSLP, (b) от около 10 мМ до около 40 мМ гистидинового буферного агента, (с) от около 0,01 до около 0,04% (мас./об.) полисорбата 80 или полисорбата 20 и (d) от около 150 мМ до около 600 мМ пролина, маннита или аргинина; где фармацевтическая композиция имеет рН от около 5,5 до около 6,5, предпочтительно от около 5,5 до около 6, например, около 5,5, около 5,6, около 5,7, около 5,8, около 5,9 или около 6.

В некоторых вариантах осуществления вышеупомянутая фармацевтическая композиция содержит: (а) от около 120 мг/мл до около 150 мг/мл антитела к TSLP, (b) около 20 мМ гистидинового буферного агента, (с) около 0,02% (мас./об.) полисорбата 80 и (d) около 200 мМ маннита; причем фармацевтическая композиция имеет рН от около 5,5 до около 6,5, предпочтительно от около 5,5 до около 6.

В некоторых вариантах осуществления вышеупомянутая фармацевтическая композиция содержит: (а) от около 120 мг/мл до около 150 мг/мл антитела к TSLP, (b) около 20 мМ гистидинового буферного агента, (с) около 0,02% (мас./об.) полисорбата 80 и (d) около 150 мМ аргинина; причем фармацевтическая композиция имеет рН от около 5,5 до около 6,5, предпочтительно от около 5,5 до около 6.

В некоторых вариантах осуществления вышеупомянутая фармацевтическая композиция содержит: (а) от около 120 мг/мл до около 150 мг/мл антитела к TSLP, (b) около 20 мМ гистидинового буферного агента, (с) около 0,02% (мас./об.) полисорбата 80 и (d) около 400 мМ пролина; причем фармацевтическая композиция имеет рН от около 5,5 до около 6,5, предпочтительно от около 5,5 до около 6.

В некоторых вариантах осуществления вышеупомянутая фармацевтическая композиция содержит: (а) от около 120 мг/мл до около 150 мг/мл антитела к TSLP, (b) около 18 мМ гистидинового буферного агента, (с) около 0,02% (мас./об.) полисорбата 80 и (d) около 400 мМ пролина; причем фармацевтическая композиция имеет рН от около 5,5 до около 6,5, предпочтительно от около 5,5 до около 6.

В некоторых вариантах осуществления вышеупомянутая фармацевтическая

композиция содержит: (а) от около 120 мг/мл до около 150 мг/мл антитела к TSLP, (b) около 22 мМ гистидинового буферного агента, (с) около 0,02% (мас./об.) полисорбата 80 и (d) около 400 мМ пролина; причем фармацевтическая композиция имеет рН от около 5,5 до около 6,5, предпочтительно от около 5,5 до около 6.

В некоторых вариантах осуществления вышеупомянутая фармацевтическая композиция содержит: (а) от около 120 мг/мл до около 150 мг/мл антитела к TSLP, (b) около 18 мМ гистидинового буферного агента, (с) около 0,02% (мас./об.) полисорбата 80 и (d) около 500 мМ пролина; причем фармацевтическая композиция имеет рН от около 5,5 до около 6,5, предпочтительно от около 5,5 до около 6.

В некоторых вариантах осуществления вышеупомянутая фармацевтическая композиция содержит: (а) от около 120 мг/мл до около 150 мг/мл антитела к TSLP, (b) около 22 мМ гистидинового буферного агента, (с) около 0,02% (мас./об.) полисорбата 80 и (d) около 500 мМ пролина; причем фармацевтическая композиция имеет рН от около 5,5 до около 6,5, предпочтительно от около 5,5 до около 6.

В некоторых вариантах осуществления вышеупомянутая фармацевтическая композиция содержит: (а) от около 120 мг/мл до около 150 мг/мл антитела к TSLP, (b) около 20 мМ гистидинового буферного агента, (с) около 0,02% (мас./об.) полисорбата 80 и (d) около 500 мМ пролина; причем фармацевтическая композиция имеет рН от около 5,5 до около 6,5, предпочтительно от около 5,5 до около 6.

В некоторых вариантах осуществления вышеупомянутая фармацевтическая композиция содержит: (а) от около 120 мг/мл до около 150 мг/мл антитела к TSLP, (b) около 18 мМ гистидинового буферного агента, (с) около 0,02% (мас./об.) полисорбата 80 и (d) около 450 мМ пролина; причем фармацевтическая композиция имеет рН от около 5,5 до около 6,5, предпочтительно от около 5,5 до около 6.

В некоторых вариантах осуществления вышеупомянутая фармацевтическая композиция содержит: (а) от около 120 мг/мл до около 150 мг/мл антитела к TSLP, (b) около 22 мМ гистидинового буферного агента, (с) около 0,02% (мас./об.) полисорбата 80 и (d) около 450 мМ пролина; причем фармацевтическая композиция имеет рН от около 5,5 до около 6,5, предпочтительно от около 5,5 до около 6.

В некоторых вариантах осуществления вышеупомянутая фармацевтическая

композиция содержит: (а) от около 120 мг/мл до около 150 мг/мл антитела к TSLP, (b) около 20 мМ гистидинового буферного агента, (с) около 0,02% (мас./об.) полисорбата 80 и (d) около 450 мМ пролина; причем фармацевтическая композиция имеет рН от около 5,5 до около 6,5, предпочтительно от около 5,5 до около 6.

В некоторых вариантах осуществления вышеупомянутая фармацевтическая композиция содержит: (а) от около 120 мг/мл до около 150 мг/мл антитела к TSLP, (b) около 18 мМ гистидинового буферного агента, (с) около 0,02% (мас./об.) полисорбата 80 и (d) около 350 мМ пролина; причем фармацевтическая композиция имеет рН от около 5,5 до около 6,5, предпочтительно от около 5,5 до около 6.

В некоторых вариантах осуществления вышеупомянутая фармацевтическая композиция содержит: (а) от около 120 мг/мл до около 150 мг/мл антитела к TSLP, (b) около 22 мМ гистидинового буферного агента, (с) около 0,02% (мас./об.) полисорбата 80 и (d) около 350 мМ пролина; причем фармацевтическая композиция имеет рН от около 5,5 до около 6,5, предпочтительно от около 5,5 до около 6.

В некоторых вариантах осуществления вышеупомянутая фармацевтическая композиция содержит: (а) от около 120 мг/мл до около 150 мг/мл антитела к TSLP, (b) около 20 мМ гистидинового буферного агента, (с) около 0,02% (мас./об.) полисорбата 80 и (d) около 350 мМ пролина; причем фармацевтическая композиция имеет рН от около 5,5 до около 6,5, предпочтительно от около 5,5 до около 6.

В некоторых вариантах осуществления вышеупомянутая фармацевтическая композиция содержит: (а) от около 120 мг/мл до около 150 мг/мл антитела к TSLP, (b) около 18 мМ гистидинового буферного агента, (с) около 0,02% (мас./об.) полисорбата 80 и (d) около 250 мМ пролина; причем фармацевтическая композиция имеет рН от около 5,5 до около 6,5, предпочтительно от около 5,5 до около 6.

В некоторых вариантах осуществления вышеупомянутая фармацевтическая композиция содержит: (а) от около 120 мг/мл до около 150 мг/мл антитела к TSLP, (b) около 22 мМ гистидинового буферного агента, (с) около 0,02% (мас./об.) полисорбата 80 и (d) около 250 мМ пролина; причем фармацевтическая композиция имеет рН от около 5,5 до около 6,5, предпочтительно от около 5,5 до около 6.

В некоторых вариантах осуществления вышеупомянутая фармацевтическая

композиция содержит: (a) от около 120 мг/мл до около 150 мг/мл антитела к TSLP, (b) около 20 мМ гистидинового буферного агента, (c) около 0,02% (мас./об.) полисорбата 80 и (d) около 250 мМ пролина; причем фармацевтическая композиция имеет рН от около 5,5 до около 6,5, предпочтительно от около 5,5 до около 6.

В некоторых вариантах осуществления вышеупомянутая фармацевтическая композиция содержит: (a) около 120 мг/мл антитела к TSLP, (b) около 20 мМ гистидинового буферного агента, (c) около 0,02% (мас./об.) полисорбата 80 и (d) около 400 мМ пролина; причем фармацевтическая композиция имеет рН около 5,8.

В некоторых вариантах осуществления вышеупомянутая фармацевтическая композиция содержит: (a) от около 120 мг/мл до около 150 мг/мл антитела к TSLP, (b) от около 10 мМ до около 40 мМ фосфатного или ацетатного буферного агента, (c) от около 0,01 до около 0,04% (мас./об.) полисорбата 80 или полисорбата 20 и (d) от около 200 мМ до около 600 мМ пролина, аргинина или маннита; причем фармацевтическая композиция имеет рН от около 5 до около 7, например, около 5, около 5,1, около 5,2, около 5,3, около 5,4, около 5,5, около 5,6, около 5,7, около 5,8, около 5,9, около 6, около 6,5 или около 7.

В некоторых вариантах осуществления вышеупомянутая фармацевтическая композиция содержит: (a) от около 120 мг/мл до около 150 мг/мл антитела к TSLP, (b) около 20 мМ фосфатного или ацетатного буферного агента, (c) от около 0,01 до около 0,04% (мас./об.) полисорбата 80 или полисорбата 20 и (d) около 200 мМ маннита; где фармацевтическая композиция имеет рН от около 5 до около 7.

В некоторых вариантах осуществления вышеупомянутая фармацевтическая композиция содержит: (a) от около 120 мг/мл до около 150 мг/мл антитела к TSLP, (b) около 20 мМ натрий-фосфатного буферного агента или ацетата натрия, (c) от около 0,02 до около 0,04% (мас./об.) полисорбата 80 или полисорбата 20 и (d) около 200 мМ маннита; где фармацевтическая композиция имеет рН от около 5 до около 7.

В вышеупомянутую фармацевтическую композицию при необходимости можно соответствующим образом добавить изотонизирующий агент или консервант, и изотонизирующий агент или консервант можно соответствующим образом использовать в соответствующем количестве в количественном диапазоне, способном обеспечить желаемый эффект. Изотонизирующий агент содержит хлорид натрия, хлорид калия,

хлорид кальция и др., консервант содержит метил-пара-гидроксибензоат, этил-пара-гидроксибензоат, сорбиновую кислоту, фенол, крезол, хлоркрезол, бензиловый спирт и др.

В необязательном варианте осуществления антитело к TSLP в вышеупомянутой фармацевтической композиции содержит переменную область тяжелой цепи, содержащую область VH-CDR1, область VH-CDR2 и область VH-CDR3, где область VH-CDR1, область VH-CDR2 и область VH-CDR3 содержат: аминокислотные последовательности, указанные в SEQ ID NO: 1, 2 и 3, соответственно.

В дополнительном варианте осуществления антитело к TSLP в вышеупомянутой фармацевтической композиции содержит переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, указанную в SEQ ID NO: 7, 8 или 9 ( $X1 = R, X2 = V, X3 = R$ ;  $X1 = R, X2 = V, X3 = V$ ;  $X1 = R, X2 = A, X3 = R$ ;  $X1 = K, X2 = A, X3 = R$ ; или  $X1 = K, X2 = A, X3 = V$ ); где аминокислотная последовательность, указанная в SEQ ID NO: 7, может кодироваться нуклеотидной последовательностью, указанной в SEQ ID NO: 17 или 18, и аминокислотная последовательность, указанная в SEQ ID NO: 9 ( $X1 = R, X2 = V, X3 = R$ ), может кодироваться нуклеотидной последовательностью, указанной в SEQ ID NO: 19.

В необязательном варианте осуществления антитело к TSLP в вышеупомянутой фармацевтической композиции содержит переменную область легкой цепи, содержащую область VL-CDR1, область VL-CDR2 и область VL-CDR3, где область VL-CDR1, область VL-CDR2 и область VL-CDR3 могут содержать: аминокислотные последовательности, указанные в SEQ ID NO: 4, 5 и 6, соответственно.

В дополнительном варианте осуществления антитело к TSLP в вышеупомянутой фармацевтической композиции содержит переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, указанную в SEQ ID NO: 10 или 11 ( $X1 = S, X2 = V$ ;  $X1 = A, X2 = I$ ; или  $X1 = S, X2 = I$ ); где аминокислотная последовательность, указанная в SEQ ID NO: 10, может кодироваться нуклеотидной последовательностью, указанная в SEQ ID NO: 20 или 21, и аминокислотная последовательность, указанная в SEQ ID NO: 11 ( $X1 = A, X2 = I$ ), может кодироваться нуклеотидной последовательностью, указанная в SEQ ID NO: 22.

В дополнительном варианте осуществления антитело к TSLP в вышеупомянутой фармацевтической композиции содержит переменную область тяжелой цепи, содержащую область VH-CDR1, область VH-CDR2 и область VH-CDR3, и переменную область легкой цепи, содержащую область VL-CDR1, область VL-CDR2 и область VL-CDR3, где область VH-CDR1, область VH-CDR2, область VH-CDR3, область VL-CDR1, область VL-CDR2 и область VL-CDR3 содержат: аминокислотные последовательности, указанная в SEQ ID NO: 1, 2, 3, 4, 5 и 6, соответственно.

В дополнительном варианте осуществления антитело к TSLP в вышеупомянутой фармацевтической композиции содержит переменную область тяжелой цепи и переменную область легкой цепи, и переменная область тяжелой цепи и переменная область легкой цепи могут содержать аминокислотную последовательность, выбранную из следующих аминокислотных последовательностей: (1) соответственно, как указано в SEQ ID NO: 7 и 10; (2) соответственно, как указано в SEQ ID NO: 8 и 11 (X1 = S, X2 = V); (3) соответственно, как указано в SEQ ID NO: 9 (X1 = R, X2 = V, X3 = R) и 11 (X1 = S, X2 = V); (4) соответственно, как указано в SEQ ID NO: 9 (X1 = R, X2 = V, X3 = V) и 11 (X1 = S, X2 = V); (5) соответственно, как указано в SEQ ID NO: 9 (X1 = R, X2 = A, X3 = R) и 11 (X1 = S, X2 = V); (6) соответственно, как указано в SEQ ID NO: 9 (X1 = K, X2 = A, X3 = R) и 11 (X1 = S, X2 = V); (7) соответственно, как указано в SEQ ID NO: 9 (X1 = K, X2 = A, X3 = V) и 11 (X1 = S, X2 = V); (8) соответственно, как указано в SEQ ID NO: 8 и 11 (X1 = A, X2 = I); (9) соответственно, как указано в SEQ ID NO: 9 (X1 = R, X2 = V, X3 = R) и 11 (X1 = A, X2 = I); (10) соответственно, как указано в SEQ ID NO: 9 (X1 = R, X2 = V, X3 = V) и 11 (X1 = A, X2 = I); (11) соответственно, как указано в SEQ ID NO: 9 (X1 = R, X2 = A, X3 = R) и 11 (X1 = A, X2 = I); (12) соответственно, как указано в SEQ ID NO: 9 (X1 = K, X2 = A, X3 = R) и 11 (X1 = A, X2 = I); (13) соответственно, как указано в SEQ ID NO: 9 (X1 = K, X2 = A, X3 = V) и 11 (X1 = A, X2 = I); (14) соответственно, как указано в SEQ ID NO: 8 и 11 (X1 = S, X2 = I); (15) соответственно, как указано в SEQ ID NO: 9 (X1 = R, X2 = V, X3 = R) и 11 (X1 = S, X2 = I); (16) соответственно, как указано в SEQ ID NO: 9 (X1 = R, X2 = V, X3 = V) и 11 (X1 = S, X2 = I); (17) соответственно, как указано в SEQ ID NO: 9 (X1 = R, X2 = A, X3 = R) и 11 (X1 = S, X2 = I); (18) соответственно, как указано в SEQ ID NO: 9 (X1 = K, X2 = A, X3 = R) и 11 (X1 = S, X2 = I); или (19) соответственно, как указано в SEQ ID

NO: 9 (X1 = K, X2 = A, X3 = V) и 11 (X1 = S, X2 = I).

В необязательном варианте осуществления антитело к TSLP в вышеупомянутой фармацевтической композиции содержит тяжелую цепь и легкую цепь, тяжелая цепь содержит переменную область тяжелой цепи и константную область тяжелой цепи, и легкая цепь содержит переменную область легкой цепи и константную область легкой цепи; константная область тяжелой цепи может содержать константную область тяжелой цепи IgG1 человека, имеющую аминокислотную последовательность, указанную в SEQ ID NO: 12 или 37, или константную область тяжелой цепи IgG4 человека, имеющую аминокислотную последовательность, указанную в SEQ ID NO: 13, или фрагмент константной области тяжелой цепи; константная область легкой цепи может содержать константную область легкой цепи к человека, имеющую аминокислотную последовательность, указанную в SEQ ID NO: 14, или ее фрагмент; константная область тяжелой цепи может также представлять собой константную область тяжелой цепи IgG1 мыши, имеющую аминокислотную последовательность, указанную в SEQ ID NO: 15, и константная область легкой цепи может представлять собой константную область легкой цепи к мыши, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 16; где аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 12-16 и 37 могут кодироваться нуклеотидными последовательностями SEQ ID NO: 23-27 и 38, соответственно.

В необязательном варианте осуществления антитело к TSLP в вышеупомянутой фармацевтической композиции может представлять собой полноразмерное антитело, например, изоформа IgG1, IgG2 или IgG4. В других вариантах осуществления антитело к TSLP в вышеупомянутой фармацевтической композиции может представлять собой одноцепочечное переменное (scFv) антитело или фрагмент антитела, такой как фрагмент Fab или F(ab')<sub>2</sub>.

В необязательном варианте осуществления антитело к TSLP в вышеупомянутой фармацевтической композиции представляет собой антитело к TSLP в PCT/CN2020/113289.

Настоящее изобретение также относится к способу получения вышеупомянутой фармацевтической композиции, включающему стадию приведения в контакт вышеупомянутого антитела к TSLP с буферным агентом, например, путем замены

антитела к TSLP на буферный агент, предпочтительно, буферный агент представляет собой фосфатный буферный агент, гистидиновый буферный агент или ацетатный буферный агент, буферный агент имеет концентрацию 1-100 мМ или 2-80 мМ, предпочтительно 5-60 мМ, более предпочтительно 10-40 мМ, и буферный агент имеет рН от 5 до 7, предпочтительно 5,5-7, более предпочтительно 5,5-6,5. Способ получения вышеупомянутой фармацевтической композиции дополнительно включает добавление одного или более стабилизаторов и поверхностно-активного вещества в любом порядке, причем стабилизатор содержит трегалозу, маннит, сахарозу, аргинин или его фармацевтически приемлемую соль, глицин или пролин и т. д., а поверхностно-активное вещество содержит полисорбат 20 или полисорбат 80 и т. д.

В настоящем изобретении также предложен способ получения лиофилизированного состава, содержащего антитело к TSLP, включающий стадию лиофилизации вышеупомянутой фармацевтической композиции. В некоторых вариантах реализации лиофилизацию проводят с использованием способа, хорошо известного в данной области техники, и он включает, но не ограничивается ими, стадии предварительного замораживания, первичной сушки и вторичной сушки. Специалистам в данной области техники понятно, что любой способ удаления воды из фармацевтической композиции по настоящему изобретению подходит для применения в настоящем изобретении.

В настоящем изобретении также предложена лиофилизированный состав, содержащий антитело к TSLP, которое получают вышеупомянутым способом получения лиофилизированного состава.

В настоящем изобретении также предложен лиофилизированный состав, содержащий антитело к TSLP, причем лиофилизированный состав способен образовывать вышеупомянутую фармацевтическую композицию при восстановлении.

В настоящем изобретении также предложено изделие, содержащее контейнер, содержащий вышеупомянутую фармацевтическую композицию или вышеупомянутый лиофилизированный состав.

Фармацевтическую композицию или лиофилизированный состав по настоящему изобретению можно вводить в соответствии с известными способами, например, путем

инъекции или инфузии в течение определенного периода времени подходящим образом, например, подкожным, внутривенным, внутривнутрибрюшинным, внутримышечным, внутриартериальным, внутриочаговым или внутрисуставным путями, местно, путем ингаляции или путем замедленного или отсроченного высвобождения.

Фармацевтическая композиция по настоящему изобретению может также содержать одно или более других активных соединений, предпочтительно тех, которые обладают комплементарной активностью, которые не оказывают неблагоприятного влияния друг на друга, до тех пор, пока это необходимо для конкретного состояния, нуждающегося в лечении. Дополнительно или альтернативно, фармацевтическая композиция может содержать антитело к TSLP и другой специфический для заболевания белок, такой как TSLPR, IgE, IL-13 или IL-5, причем такие молекулы соответствующим образом присутствуют в фармацевтической композиции в количестве, эффективном для предполагаемой мишени.

Настоящее изобретение также относится к применению фармацевтической композиции, лиофилизированного состава или изделия по настоящему изобретению для получения лекарственного средства для лечения и профилактики заболеваний, связанных с TSLP. В некоторых вариантах реализации изобретения заболевания, связанные с TSLP, включают астму, язвенный колит, атопический дерматит и псориаз.

Настоящее изобретение также относится к способу лечения и предупреждения заболеваний, связанных с TSLP, включающему введение субъекту фармацевтической композиции, лиофилизированного состава или изделия по настоящему изобретению. В некоторых вариантах реализации изобретения заболевания, связанные с TSLP, включают астму, язвенный колит, атопический дерматит и псориаз.

В целом, настоящее изобретение относится к следующим позициям:

1. Фармацевтическая композиция, содержащая: (a) антитело к TSLP, (b) буферный агент, (c) поверхностно-активное вещество и один или более (d) стабилизаторов.

2. Фармацевтическая композиция по позиции 1, где антитело к TSLP содержит переменную область тяжелой цепи, содержащую область VH-CDR1, область VH-CDR2 и область VH-CDR3, и переменную область легкой цепи, содержащую область VL-CDR1, область VL-CDR2 и область VL-CDR3, где область VH-CDR1, область

VH-CDR2, область VH-CDR3, область VL-CDR1, область VL-CDR2 и область VL-CDR3 содержат: аминокислотные последовательности, указанные в SEQ ID NO: 1, 2, 3, 4, 5 и 6, соответственно.

3. Фармацевтическая композиция по позициям 1 или 2, где антитело к TSLP содержит вариабельную область тяжелой цепи и вариабельную область легкой цепи, и вариабельная область тяжелой цепи и вариабельная область легкой цепи могут содержать аминокислотную последовательность, выбранную из следующих аминокислотных последовательностей: (1) соответственно, как указано в SEQ ID NO: 7 и 10; (2) соответственно, как указано в SEQ ID NO: 8 и 11 ( $X1 = S, X2 = V$ ); (3) соответственно, как указано в SEQ ID NO: 9 ( $X1 = R, X2 = V, X3 = R$ ) и 11 ( $X1 = S, X2 = V$ ); (4) соответственно, как указано в SEQ ID NO: 9 ( $X1 = R, X2 = V, X3 = V$ ) и 11 ( $X1 = S, X2 = V$ ); (5) соответственно, как указано в SEQ ID NO: 9 ( $X1 = R, X2 = A, X3 = R$ ) и 11 ( $X1 = S, X2 = V$ ); (6) соответственно, как указано в SEQ ID NO: 9 ( $X1 = K, X2 = A, X3 = R$ ) и 11 ( $X1 = S, X2 = V$ ); (7) соответственно, как указано в SEQ ID NO: 9 ( $X1 = K, X2 = A, X3 = V$ ) и 11 ( $X1 = S, X2 = V$ ); (8) соответственно, как указано в SEQ ID NO: 8 и 11 ( $X1 = A, X2 = I$ ); (9) соответственно, как указано в SEQ ID NO: 9 ( $X1 = R, X2 = V, X3 = R$ ) и 11 ( $X1 = A, X2 = I$ ); (10) соответственно, как указано в SEQ ID NO: 9 ( $X1 = R, X2 = V, X3 = V$ ) и 11 ( $X1 = A, X2 = I$ ); (11) соответственно, как указано в SEQ ID NO: 9 ( $X1 = R, X2 = A, X3 = R$ ) и 11 ( $X1 = A, X2 = I$ ); (12) соответственно, как указано в SEQ ID NO: 9 ( $X1 = K, X2 = A, X3 = R$ ) и 11 ( $X1 = A, X2 = I$ ); (13) соответственно как указано в SEQ ID NO: 9 ( $X1 = K, X2 = A, X3 = V$ ) и 11 ( $X1 = A, X2 = I$ ); (14) соответственно, как указано в SEQ ID NO: 8 и 11 ( $X1 = S, X2 = I$ ); (15) соответственно, как указано в SEQ ID NO: 9 ( $X1 = R, X2 = V, X3 = R$ ) и 11 ( $X1 = S, X2 = I$ ); (16) соответственно, как указано в SEQ ID NO: 9 ( $X1 = R, X2 = V, X3 = V$ ) и 11 ( $X1 = S, X2 = I$ ); (17) соответственно, как указано в SEQ ID NO: 9 ( $X1 = R, X2 = A, X3 = R$ ) и 11 ( $X1 = S, X2 = I$ ); (18) соответственно, как указано в SEQ ID NO: 9 ( $X1 = K, X2 = A, X3 = R$ ) и 11 ( $X1 = S, X2 = I$ ); или (19) соответственно, как указано в SEQ ID NO: 9 ( $X1 = K, X2 = A, X3 = V$ ) и 11 ( $X1 = S, X2 = I$ ).

4. Фармацевтическая композиция по любой из позиций 1-3, где антитело к TSLP имеет концентрацию 30-300 мг/мл, предпочтительно 50-250 мг/мл, предпочтительно 70-200 мг/мл, более предпочтительно 90-150 мг/мл, наиболее предпочтительно 120-150

мг/мл.

5. Фармацевтическая композиция по любой из позиций 1-4, где буферный агент содержит фосфатный буферный агент, гистидиновый буферный агент, ацетатный буферный агент или цитратный буферный агент.

6. Фармацевтическая композиция по позиции 5, где фосфатный буферный агент представляет собой натрий-фосфатный буферный агент, ацетатный буферный агент представляет собой натрий-ацетатный буферный агент, и цитратный буферный агент представляет собой натрий-цитратный буферный агент.

7. Фармацевтическая композиция по любой из позиций 1-6, где буферный агент имеет концентрацию 1-100 мМ, предпочтительно 2-80 мМ, более предпочтительно 5-60 мМ, наиболее предпочтительно 10-40 мМ.

8. Фармацевтическая композиция по любой из позиций 1-7, где поверхностно-активное вещество содержит полисорбат 80 или полисорбат 20.

9. Фармацевтическая композиция по любой из позиций 1-8, где поверхностно-активное вещество имеет концентрацию 0,001-0,1% (мас./об.), предпочтительно 0,004-0,08% (мас./об.), более предпочтительно 0,006-0,06% (мас./об.), наиболее предпочтительно 0,008-0,04% (мас./об.).

10. Фармацевтическая композиция по любой из позиций 1-9, где стабилизатор содержит трегалозу, маннит, сахарозу, аргинин или его фармацевтически приемлемую соль, глицин или пролин.

11. Фармацевтическая композиция по любой из позиций 1-10, где стабилизатор имеет концентрацию 100-1000 мМ, предпочтительно 120-800 мМ, более предпочтительно 150-700 мМ, наиболее предпочтительно 150-600 мМ.

12. Фармацевтическая композиция по любой из позиций 1-11, которая имеет рН от 5 до 7, предпочтительно 5,5-7, более предпочтительно 5,5-6,5.

13. Фармацевтическая композиция по любой из позиций 1-12, которая содержит:

(a) 30-300 мг/мл антитела к TSLP,

(b) 1-100 мМ буферного агента,

(c) 0,001-0,1% (мас./об.) поверхностно-активного вещества, и

один или более (d) 100-1000 мМ стабилизаторов;

где фармацевтическая композиция имеет рН от 5 до 7, предпочтительно 5,5-7, более предпочтительно 5,5-6,5.

14. Фармацевтическая композиция по любой из позиций 1-13, которая содержит:

(a) 50-250 мг/мл антитела к TSLP,

(b) 2-80 мМ буферного агента,

(c) 0,004-0,08% (мас./об.) поверхностно-активного вещества, и

один или более (d) 120-800 мМ стабилизаторов;

где фармацевтическая композиция имеет рН от 5 до 7, предпочтительно 5,5-7, более предпочтительно 5,5-6,5.

15. Фармацевтическая композиция по любой из позиций 1-14, которая содержит:

(a) 70-200 мг/мл антитела к TSLP,

(b) 5-60 мМ буферного агента,

(c) 0,006-0,06% (мас./об.) поверхностно-активного вещества, и

один или более (d) 150-700 мМ стабилизаторов;

где фармацевтическая композиция имеет рН от 5 до 7, предпочтительно 5,5-7, более предпочтительно 5,5-6,5.

16. Фармацевтическая композиция по любой из позиций 1-15, которая содержит:

(a) 90-150 мг/мл антитела к TSLP,

(b) 10-40 мМ буферного агента,

(c) 0,008-0,04% (мас./об.) поверхностно-активного вещества, и

один или более (d) 150-600 мМ стабилизаторов;

где фармацевтическая композиция имеет рН от 5 до 7, предпочтительно 5,5-7, более предпочтительно 5,5-6,5.

17. Фармацевтическая композиция по любой из позиций 1-16, которая содержит:

(A) 120-150 мг/мл антитела к TSLP,

(b) 10-40 мМ буферного агента,

(c) 0,008-0,04% (мас./об.) поверхностно-активного вещества, и

один или более (d) 150-600 мМ стабилизаторов;

где фармацевтическая композиция имеет рН от 5 до 7, предпочтительно 5,5-7, более предпочтительно 5,5-6,5.

18. Лиофилизированный состав, содержащий антитело к TSLP, причем лиофилизированный состав получают лиофилизацией фармацевтической композиции по любой из позиций 1-17.

19. Лиофилизированный состав, содержащий антитело к TSLP, причем лиофилизированный состав способен образовывать фармацевтическую композицию по любой из позиций 1-17 после восстановления.

20. Изделие, содержащее контейнер, содержащий фармацевтическую композицию по любой из позиций 1-17 или лиофилизированный состав по любой из позиций 18-19.

21. Способ лечения и предупреждения заболеваний, связанных с TSLP, включающий введение пациенту, нуждающемуся в этом, терапевтически эффективного количества фармацевтической композиции по любой из позиций 1-17, или лиофилизированного состава по любой из позиций 18-19, или изделия по позиции 20.

22. Способ по позиции 21, где заболевания, связанные с TSLP, включают астму, язвенный колит, атопический дерматит и псориаз.

#### КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ГРАФИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ

На фиг. 1 показана способность гуманизированных антител hu1C5F12E9-V8 и hu1C5F12E9-V14 связываться с TSLP человека в ELISA (иммуноферментный анализ) с захватом.

На фиг. 2 показана способность гуманизированных антител hu1C5F12E9-V8 и hu1C5F12E9-V14 связываться с TSLP яванского макака в непрямом ИФА.

На фиг. 3 показана способность гуманизированных антител hu1C5F12E9-V8 и hu1C5F12E9-V14 блокировать связывание TSLP человека с TSLPR/IL7R в конкурентном ИФА.

На фиг. 4 показана способность гуманизированных антител hu1C5F12E9-V8 и hu1C5F12E9-V14 блокировать связывание эталонного тезепелумаба с TSLP человека в конкурентном ИФА.

На фиг. 5 показана способность гуманизированных антител hu1C5F12E9-V8 и hu1C5F12E9-V14 блокировать связывание TSLP человека со сконструированными клетками BAF3, экспрессирующими TSLPR и IL7R человека, в анализе FACS,

блокирующем клеточный лиганд.

На фиг. 6А-6В показан ингибирующий эффект гуманизированных антител hu1C5F12E9-V8 (А) и hu1C5F12E9-V14 (В) на выживание и пролиферацию клеток ВAF3 в клеточном функциональном анализе.

На фиг. 7 показана способность гуманизированных антител hu1C5F12E9-V8 (IgG1), hu1C5F12E9-V8 (IgG4), hu1C5F12E9-V14 (IgG1) и hu1C5F12E9-V14 (IgG4) связываться с TSLP человека в ИФА с захватом.

На фиг. 8 показана способность гуманизированных антител hu1C5F12E9-V8 (IgG1), hu1C5F12E9-V8 (IgG4), hu1C5F12E9-V14 (IgG1) и hu1C5F12E9-V14 (IgG4) блокировать связывание TSLP человека с TSLPR/IL7R в конкурентном ИФА.

На фиг. 9 показана способность гуманизированных антител hu1C5F12E9-V8 (IgG1), hu1C5F12E9-V8 (IgG4), hu1C5F12E9-V14 (IgG1) и hu1C5F12E9-V14 (IgG4) блокировать связывание эталона с TSLP человека в конкурентном ИФА.

На фиг. 10 показана способность гуманизированных антител hu1C5F12E9-V8 (IgG1), hu1C5F12E9-V8 (IgG4), hu1C5F12E9-V14 (IgG1) и hu1C5F12E9-V14 (IgG4) блокировать связывание TSLP человека со сконструированными клетками ВAF3, экспрессирующими TSLPR и IL7R человека, в анализе FACS, блокирующем клеточный лиганд.

На фиг. 11А-11В показан ингибирующий эффект гуманизированных антител hu1C5F12E9-V8 (IgG1), hu1C5F12E9-V8 (IgG4) (А), hu1C5F12E9-V14 (IgG1) и hu1C5F12E9-V14 (IgG4) (В) на выживание и пролиферацию клеток ВAF3 в клеточном функциональном анализе.

На фиг. 12А-12В показана способность гуманизированных антител hu1C5F12E9-V8 (IgG1), hu1C5F12E9-V8 (IgG4) (А), hu1C5F12E9-V14 (IgG1) и hu1C5F12E9-V14 (IgG4) (В) блокировать взаимодействие между TSLP человека и сконструированными клетками НЕК293Т в клеточном анализе репортерного гена.

На фиг. 13 показан результат анализа термического сдвига белка для антител hu1C5F12E9-V8 (IgG1), hu1C5F12E9-V8 (IgG4), hu1C5F12E9-V14 (IgG1) и hu1C5F12E9-V14 (IgG4).

**ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ**

Следующее описание настоящего изобретения предназначено только для иллюстрации различных вариантов реализации настоящего изобретения.

Для лучшего понимания настоящего описания некоторые технические и научные термины конкретно определены ниже. Если иное четко не указано в данном документе, все другие технические и научные термины, используемые в данном описании, имеют значения, обычно понятные специалистам в области техники, к которой относится настоящее изобретение.

"Фосфатный буферный агент" представляет собой буферный агент, содержащий фосфат-ионы. Примеры фосфатного буферного агента включают натрий-фосфатный буферный агент, калий-фосфатный буферный агент и т. д., и предпочтительный фосфатный буферный агент представляет собой натрий-фосфатный буферный агент.

"Ацетатный буферный агент" представляет собой буферный агент, содержащий ионы ацетата. Примеры ацетатного буферного агента включают калий-ацетатный буферный агент, аммоний-ацетатный буферный агент, натрий-ацетатный буферный агент и т. д., и предпочтительный ацетатный буферный агент представляет собой натрий-ацетатный буферный агент.

"Цитратный буферный агент" представляет собой буферный агент, содержащий цитрат-ионы. Примеры цитратного буферного агента включают натрий-цитратный буферный агент, калий-цитратный буферный агент, кальций-цитратный буферный агент и т. д., и предпочтительный цитратный буферный агент представляет собой натрий-цитратный буферный агент.

"Гистидиновый буферный агент" представляет собой буферный агент, содержащий ионы гистидина. Примеры гистидинового буферного агента включают буферный агент на основе гистидин-уксусной кислоты, буферный агент на основе гистидин-соляной кислоты и буферный агент на основе гистидин-гистидингидрохлорида. Предпочтительно, гистидиновый буферный агент получают с помощью L-гистидина, и рН дополнительно доводят уксусной кислотой или соляной кислотой.

"Буферный агент" относится к фармацевтически приемлемому агенту, способному поддерживать рН фармацевтической композиции до желаемого диапазона рН. Буферные агенты, подходящие для применения в настоящем изобретении, включают фосфатный

буферный агент, ацетатный буферный агент, цитратный буферный агент или гистидиновый буферный агент. В предпочтительном варианте осуществления буферный агент, подходящий для применения в настоящем изобретении, представляет собой гистидиновый буферный агент, полученный L-гистидином, и рН дополнительно регулируют уксусной кислотой или соляной кислотой.

"Стабилизатор" относится к фармацевтически приемлемому агенту, применяемому для поддержания стабильности активных ингредиентов в фармацевтической композиции. В настоящем изобретении стабилизатор также функционирует в качестве антипригарного агента и/или изотонизирующего агента.

"Фармацевтическая композиция" предназначена для охвата продукта, содержащего конкретный активный ингредиент (например, антитело), необязательно в определенном количестве, а также любого продукта, который является прямым или косвенным результатом объединения конкретных активных ингредиентов, необязательно в определенном количестве. Назначение фармацевтической композиции состоит в том, чтобы сделать антитело подходящим для получения и введения пациентам и поддерживать биологическую активность и/или стабильность во время хранения и последующего применения. В некоторых вариантах реализации фармацевтическая композиция представляет собой водорастворимую инъекцию, включая, но не ограничиваясь ими, водорастворимую композицию, не лиофилизированную, или водорастворимую композицию, полученную путем восстановления лиофилизованного порошка. В других вариантах реализации фармацевтическая композиция представляет собой лиофилизированный состав. В настоящем описании "фармацевтическая композиция" и "состав" не являются взаимоисключающими.

"Стабильные" или "стабилизированные" фармацевтические композиции представляют собой композиции, в которых активный ингредиент (например, антитело) по существу сохраняет свою физическую и/или химическую стабильность и/или биологическую активность во время хранения. Различные аналитические методы определения стабильности активного ингредиента известны в данной области техники, например, рассмотрены в Peptide and Protein Drug Delivery, 247-301, Vincent Lee Ed., Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., Pubs. (1991) и Jones, A. Adv. Drug Delivery Rev.

10:29-90 (1993). Стабильность может быть измерена при выбранных температурах и при других условиях хранения в течение выбранного периода времени. Например, активный ингредиент "сохраняет свою физическую стабильность" в фармацевтической композиции, если он не демонстрирует значительного увеличения агрегации, осаждения и/или денатурации при визуальном осмотре цвета и/или прозрачности, или при измерении с помощью рассеяния ультрафиолетового света, эксклюзионной хроматографии (SEC) и дифференциальной сканирующей калориметрии (DSC). Предпочтительно, когда используется фармацевтическая композиция по настоящему изобретению, 5% или менее, 4% или менее, предпочтительно 3% или менее активного ингредиента образуют агрегаты (также называемые высокомолекулярными примесями), при измерении, например, с помощью SEC-UPLC (эксклюзионная сверхэффективная жидкостная хроматография) или любого другого подходящего способа измерения образования агрегатов. Активный ингредиент (например, антитело) "сохраняет свою химическую стабильность" в фармацевтической композиции, если активный ингредиент не проявляет значительных химических изменений. Химическую стабильность можно оценить путем обнаружения и количественного определения химически измененных форматов антитела. Процессы, которые часто изменяют химическую структуру белка, включают гидролиз или усечение (оценивают такими методами, как эксклюзионная хроматография и ДСН-ПААГ-электрофорез (электрофорез в полиакриламидном геле с додецилсульфатом натрия)), окисление (оценивают такими методами, как пептидное картирование в сочетании с масс-спектрометрией или MALDI/TOF/MS (времяпролетная масс-спектрометрия с матрично-активированной лазерной десорбцией/ионизацией)), дезамидирование (оценивают такими методами, как ионообменная хроматография, капиллярная изоэлектрическая фокусировка, пептидное картирование и измерение изоаспарагиновой кислоты) и изомеризацию (оценивают путем измерения содержания изоаспарагиновой кислоты, путем пептидного картирования и т. д.). Активный ингредиент (например, антитело) "сохраняет свою биологическую активность" в течение заданного времени в фармацевтической композиции, как определено, например, с помощью анализа связывания антигена, если биологическая активность активного ингредиента в течение заданного времени находится в пределах заданного диапазона

биологической активности, проявляемой при получении фармацевтической композиции. Другие способы оценки стабильности фармацевтической композиции также описаны в приведенных ниже примерах, таких как измерение вязкости с использованием вискозиметра HVROC-S. Предпочтительно считается, что фармацевтическая композиция по настоящему изобретению имеет низкую вязкость, когда она проявляет вязкость около 20 мПа•с, около 19 мПа•с, около 18 мПа•с, около 15 мПа•с или менее.

"Высокомолекулярные примеси" или "агрегаты" относятся к общему термину для примесей, имеющих молекулярную массу, превышающую молекулярную массу рассматриваемого активного ингредиента (например, антитела).

"Заряженные варианты" относятся к вариантам антитела, которые подвергаются гликозилированию, дезамидированию, окислению и/или изомеризации и т. д., и которые прямо или косвенно вызывают изменения зарядов молекул антитела, и эти заряженные варианты могут быть обнаружены с помощью капиллярного изоэлектрического фокусирующего электрофореза (CIEF) и катионообменной хроматографии (CEX-HPLC) и т. д.

Формы единственного числа используются в настоящем документе для обозначения одного или более (то есть, по меньшей мере одного) грамматических объектов. Например, "фармацевтическая композиция" относится к одной фармацевтической композиции или более чем к одной фармацевтической композиции.

Термин "около" или "приблизительно" означает, что числовое значение находится в пределах допустимого диапазона погрешности для конкретного значения, определенного специалистами в данной области техники, и числовое значение частично зависит от того, как выполняется измерение или определение (то есть, пределы измерительной системы). Например, "около" или "приблизительно" в данной области техники может означать стандартное отклонение в пределах 1 или более 1. В альтернативном варианте "около" или "приблизительно" представляет собой диапазон  $\pm 15\%$ ,  $\pm 10\%$ ,  $\pm 5\%$  или  $\pm 1\%$ . Кроме того, в частности, для биологической системы или процесса этот термин может означать не более чем на порядок или не более чем в 5 раз большее значение. В настоящем изобретении, если не указано иное, "около XX" или "приблизительно XX" или "по существу содержащее XX" относится к цифровому

значению в пределах приемлемого диапазона ошибок для конкретного значения "XX" (включая само цифровое значение "XX", а также те, которые находятся в пределах приемлемого диапазона ошибок для определения цифрового значения специалистами в данной области техники).

Как описано в настоящем документе, любой процентный диапазон, диапазон соотношений или целочисленный диапазон следует понимать как включающий значение любого целого числа в пределах указанного диапазона и включающий, при необходимости, его доли (например, одну десятую и одну сотую целого числа), если не указано иное.

На протяжении всего настоящего изобретения, если из контекста не следует иное, слова "содержать/включать", "содержит/включает" и "содержащий/включающий" следует понимать как содержащие/включающие стадии или элементы или группу стадий или элементов, но не исключая любые другие стадии или элементы или группы стадий или элементов. "Состоящий из..." означает содержащий и ограничивающийся тем, что следует за фразой "состоящий из". Таким образом, фраза "состоящий из..." означает, что перечисленные элементы являются требуемыми или необходимыми и что никакие другие элементы не могут присутствовать. "По существу состоящий из..." означает содержащий любой перечисленный элемент, который следует за указанной фразой, и ограниченный другими элементами, которые не мешают или не являются благоприятными для активности или эффектов перечисленных элементов, как подробно описано в настоящем описании. Таким образом, фраза "по существу состоящий из..." означает, что перечисленные элементы являются требуемыми или необходимыми, но другие элементы являются необязательными и могут присутствовать или отсутствовать в зависимости от того, влияют ли они на активность или эффекты перечисленных элементов.

Термин "TSLP" относится к стромальному лимфопоэтину тимуса. Термин "TSLP" включает варианты, изоформы, гомологи, ортологи и паралоги. Например, в некоторых случаях антитело, специфичное к белку TSLP человека, может перекрестно реагировать с белками TSLP вида, отличного от человека (например, обезьяны). В других вариантах осуществления антитело, специфичное к белку TSLP человека, может быть полностью специфичным к белку TSLP человека и не вступает в перекрестную реакцию с другими

видами или другими типами белков или может вступать в перекрестную реакцию с TSLP, полученным от некоторых других видов, но не от всех других видов.

Термин "TSLP человека" относится к белку TSLP, имеющему аминокислотную последовательность человека, например, аминокислотную последовательность TSLP человека, имеющую номер доступа Genbank NP\_149024.1. Термины "TSLP обезьяны или резуса" и "TSLP мыши" относятся к последовательностям TSLP обезьяны и мыши, соответственно, например, имеющим аминокислотные последовательности с номерами доступа Genbank NP\_001100503.1 и NP\_067342.1 соответственно.

Подразумевается, что "антитело" включает полноразмерное антитело и любые его антигенсвязывающие фрагменты (т.е. антигенсвязывающая часть) или одиночные цепи. Обычное полноразмерное антитело представляет собой гликопротеин, содержащий две тяжелые (H) цепи и две легкие (L) цепи, связанные дисульфидными связями. Каждая тяжелая цепь состоит из переменной области тяжелой цепи ( $V_H$ ) и константной области тяжелой цепи, состоящей из трех доменов,  $C_{H1}$ ,  $C_{H2}$  и  $C_{H3}$ . Каждая легкая цепь состоит из переменной области легкой цепи ( $V_L$ ) и константной области легкой цепи, состоящей из домена  $C_L$ . Области  $V_H$  и  $V_L$  также могут быть разделены на гиперпеременные области, известные как определяющие комплементарность области (CDR), которые разделены более консервативными каркасными областями (FR). Каждая  $V_H$  и  $V_L$  состоит из трех CDR и четырех FR, расположенных от аминоконца до карбоксиконца в следующем порядке: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4. Переменные области тяжелых цепей и легких цепей содержат связывающие домены, которые взаимодействуют с антигенами. Константные области антител могут опосредовать связывание иммуноглобулина с тканями или факторами хозяина, включая различные клетки иммунной системы (например, эффекторные клетки) и первый компонент ( $C1q$ ) классической системы комплемента.

"Антигенсвязывающая часть" антитела (или просто "часть антитела") относится к одному или более фрагментам антитела, которые сохраняют способность специфически связываться с антигеном (например, белком TSLP). Было показано, что антигенсвязывающая функция антитела может быть осуществлена с помощью фрагментов полноразмерного антитела. Примеры связывающих фрагментов, охватываемых

"антигенсвязывающей частью" антитела, включают: (i) фрагмент Fab, одновалентный фрагмент, состоящий из  $V_L$ ,  $V_H$ ,  $C_L$  и  $C_{H1}$ ; (ii) фрагмент  $F(ab')_2$ , двухвалентный фрагмент, содержащий два фрагмента Fab, связанных дисульфидной связью в шарнирной области; (iii) фрагмент Fd, состоящий из  $V_H$  и  $C_{H1}$ ; (iv) фрагмент Fv, состоящий из  $V_L$  и  $V_H$  одного плеча антитела; (v) фрагмент dAb, состоящий из  $V_H$  (Ward et al., (1989) Nature 341:544-546); (vi) выделенные определяющие комплементарность области (CDR); и (vii) нанотело, вариабельную область тяжелой цепи, содержащую один вариабельный домен и два константных домена. Кроме того, хотя два домена  $V_L$  и  $V_H$  фрагмента Fv кодируются различными генами, они могут быть соединены с помощью синтетического линкера с помощью рекомбинантных средств в одноцепочечный белок, в котором  $V_L$  и  $V_H$  спариваются с образованием одновалентной молекулы (называемой одноцепочечным Fc (scFv); см., например, Bird et al., (1988) Science 242:423-426; и Huston et al., (1988) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85:5879-5883). Эти одноцепочечные антитела также включены в термин "антигенсвязывающая часть" антитела. Эти фрагменты антител могут быть получены с использованием обычных методик, известных специалистам в данной области техники, и фрагменты могут быть подвергнуты функциональному скринингу с использованием того же способа, что и полноразмерные антитела.

"Выделенное антитело" относится к антителу, которое по существу не содержит других антител с различной антигенной специфичностью (например, выделенное антитело, которое специфически связывается с белком TSLP, по существу не содержит антител, которые специфически связываются с антигенами, отличными от белка TSLP). Однако выделенное антитело, которое специфически связывается с белком TSLP человека, может перекрестно связываться с другими антигенами, например, белками TSLP других видов. Кроме того, выделенное антитело по существу не содержит других клеточных материалов и/или химических веществ.

"Мышиное антитело" включает антитело, в котором каркасная область и CDR в вариабельной области получены из последовательностей иммуноглобулина зародышевой линии мыши. Кроме того, если указанное антитело содержит константную область, указанная константная область также происходит из последовательностей иммуноглобулинов зародышевой линии мыши. Антитело мыши по настоящему

изобретению может содержать аминокислотные остатки, не кодируемые последовательностями иммуноглобулина зародышевой линии мыши (например, мутации, введенные случайными или точечными мутациями *in vitro* или соматическими мутациями *in vivo*). Однако термин "мышинное антитело", используемый в настоящем документе, не включает антитела, в которых последовательности CDR других видов млекопитающих вставлены в последовательности каркасной области мыши.

"Химерное антитело" относится к антителу, полученному путем объединения генетических веществ нечеловеческого происхождения с генетическими веществами человеческого происхождения. Или, в более общем смысле, химерное антитело относится к антителу, которое объединяет генетические вещества одного вида с генетическими веществами другого вида.

"Гуманизированное антитело" относится к антителу нечеловеческого вида, белковая последовательность которого была модифицирована для повышения его сходства с природным антителом человека.

"Изотип" относится к классу антител, кодируемых генами константной области тяжелой цепи (например, IgM или IgG1).

"Антиген-распознающее антитело" и "антитело, специфичное к антигену/антитело, обладающее специфичностью к антигену" используются в настоящем документе взаимозаменяемо с термином "антитело, специфически связывающееся с антигеном".

Антитело, которое "специфически связывается с TSLP человека", относится к антителу, которое связывается с белком TSLP человека (или, возможно, также с белками TSLP одного или более видов, отличных от человека), но по существу не связывается с белком, отличным от TSLP. Предпочтительно антитело связывается с белком TSLP человека с "высокой аффинностью", то есть значением  $K_D$   $5,0 \times 10^{-8}$  М или менее, предпочтительно  $1,0 \times 10^{-8}$  М или менее, более предпочтительно  $7,0 \times 10^{-9}$  М или менее.

Термин "по существу не связывается с" белком или клеткой относится к не связывающемуся с белком или клеткой или не связывающемуся с ним с высокой аффинностью, то есть связыванию с белком или клеткой со значением  $K_D$   $1,0 \times 10^{-6}$  М или более, предпочтительно  $1,0 \times 10^{-5}$  М или более, более предпочтительно  $1,0 \times 10^{-4}$  М или более, более предпочтительно  $1,0 \times 10^{-3}$  М или более, более предпочтительно  $1,0 \times 10^{-2}$  М

или более.

"Высокая аффинность" для антител IgG относится к значению  $K_D$  для антигена  $1,0 \times 10^{-6}$  М или менее, предпочтительно  $5,0 \times 10^{-8}$  М или менее, более предпочтительно  $1,0 \times 10^{-8}$  М или менее, более предпочтительно  $7,0 \times 10^{-9}$  М или менее, более предпочтительно  $1,0 \times 10^{-9}$  М или менее. Однако для других изотипов антител "высокоаффинное" связывание может отличаться. Например, "высокоаффинное" связывание изотипа IgM относится к значению  $K_D$   $10^{-6}$  М или менее, предпочтительно  $10^{-7}$  М или менее, более предпочтительно  $10^{-8}$  М или менее.

Термин " $K_{\text{assoc}}$ " или " $K_a$ " относится к скорости ассоциации конкретного взаимодействия антитело-антиген, а термин " $K_{\text{dis}}$ " или " $K_d$ " относится к скорости диссоциации конкретного взаимодействия антитело-антиген. Термин " $K_D$ " относится к константе диссоциации, которая получена из отношения  $K_d$  к  $K_a$  (т.е.  $K_d/K_a$ ) и выражается в молярной концентрации (М). Значение  $K_D$  антитела может быть измерено с использованием способов, хорошо известных в данной области техники, и предпочтительный способ определения значения  $K_D$  антитела включает использование поверхностного плазмонного резонанса, предпочтительно с использованием биосенсорной системы, такой как система *Viasore*<sup>TM</sup>.

Термин " $EC_{50}$ ", также известный как полумаксимальная эффективная концентрация, относится к концентрации антитела, которая индуцирует ответ на полпути между исходным уровнем и максимумом после определенного времени воздействия.

Термин " $IC_{50}$ ", также известный как полумаксимальная ингибирующая концентрация, относится к концентрации антитела, которая ингибирует специфическую биологическую или биохимическую функцию на 50% по сравнению со случаем, когда антитело отсутствует.

Термин "субъект" включает любого человека или животное, не являющееся человеком. "Животное, не являющееся человеком" включает всех позвоночных, таких как млекопитающие и не млекопитающие, такие как не человекообразные приматы, овцы, собаки, кошки, коровы, лошади, куры, земноводные и рептилии; хотя млекопитающие, такие как не человекообразные приматы, овцы, собаки, кошки, коровы и лошади, являются предпочтительными.

Термин "терапевтически эффективное количество" относится к количеству, достаточному для предотвращения или облегчения симптомов, связанных с заболеваниями или патологическими состояниями (например, заболеваниями, связанными с TSLP), и/или уменьшения тяжести заболеваний или патологических состояний. Следует понимать, что терапевтически эффективное количество связано с заболеванием, подлежащим лечению, причем фактическое эффективное количество может быть легко определено специалистами в данной области техники.

Антитела к TSLP в фармацевтической композиции по настоящему изобретению

Антитело к TSLP или его антигенсвязывающая часть в фармацевтической композиции по настоящему изобретению может представлять собой антитело, имеющее структурные и химические характеристики, описанные ниже и в примерах. Аминокислоты SEQ ID NO переменных областей тяжелой/легкой цепи антител приведены в таблице 1 ниже, причем некоторые антитела имеют одинаковые VH или VL. Константная область тяжелой цепи антитела может представлять собой константную область тяжелой цепи IgG1 человека, имеющую аминокислотную последовательность, указанную в SEQ ID NO: 12 или 37, или константную область тяжелой цепи IgG4 человека, имеющую аминокислотную последовательность, указанную в SEQ ID NO: 13, и константная область легкой цепи антитела может представлять собой константную область легкой цепи к человека, имеющую аминокислотную последовательность, указанную в SEQ ID NO: 14. Эти антитела также могут содержать константную область тяжелой цепи IgG1 или IgG2 мыши и/или константную область легкой цепи к мыши. Антитело может состоять из двух тяжелых цепей и двух легких цепей, связанных дисульфидными связями, причем С-конец переменной области тяжелой цепи связан с N-концом константной области тяжелой цепи, а С-конец переменной области легкой цепи связан с N-концом константной области легкой цепи.

CDR переменной области тяжелой цепи и CDR переменной области легкой цепи в Таблице 1 были определены согласно системе нумерации по Кабату. Однако, как хорошо известно в данной области техники, CDR также могут быть определены с помощью других систем нумерации, таких как система/способ нумерации Чотиа, IMGT, AbM или Contact на основе последовательности переменной области тяжелой/легкой

цепи.

Последовательности VH и VL (или последовательности CDR) других антител к TSLP, которые связываются с TSLP человека, могут быть "смешаны и спарены" с последовательностями VH и VL (или последовательностями CDR) антитела к TSLP в фармацевтической композиции по настоящему изобретению. Предпочтительно, когда цепи VH и VL (или CDR в этих цепях) смешиваются и спариваются, последовательность VH в конкретной паре VH/VL замещена структурно схожей последовательностью VH. Аналогичным образом, предпочтительно заменять последовательность VL в конкретной паре VH/VL структурно схожей последовательностью VL.

Следовательно, в одном варианте реализации антитело к TSLP или его антигенсвязывающая часть в фармацевтической композиции по настоящему изобретению содержит:

(а) переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, указанную в Таблице 1; и

(b) переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, указанную в Таблице 1, или VL другого антитела к TSLP, где указанное антитело специфически связывается с TSLP человека.

Таблица 1. SEQ ID NO в аминокислотных последовательностях переменных областей тяжелой/легкой цепи

| Антитело                  | Тяжелая цепь           |                        |                        |                                | Легкая цепь            |                        |                        |                           |
|---------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|--------------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|---------------------------|
|                           | V <sub>H</sub><br>CDR1 | V <sub>H</sub><br>CDR2 | V <sub>H</sub><br>CDR3 | V <sub>H</sub>                 | V <sub>L</sub><br>CDR1 | V <sub>L</sub><br>CDR2 | V <sub>L</sub><br>CDR3 | V <sub>L</sub>            |
| Мышиное/химерное 1C5F12E9 | SEQ ID NO: 1           | SEQ ID NO: 2           | SEQ ID NO: 3           | SEQ ID NO: 7                   | SEQ ID NO: 4           | SEQ ID NO: 5           | SEQ ID NO: 6           | SEQ ID NO: 10             |
| hu1C5F12E9-V1             |                        |                        |                        | SEQ ID NO: 8                   |                        |                        |                        | SEQ ID NO: 11, X1=S, X2=V |
| hu1C5F12E9-V2             |                        |                        |                        | SEQ ID NO: 9, X1=R, X2=V, X3=R |                        |                        |                        | SEQ ID NO: 11, X1=S, X2=V |
| hu1C5F12E9-V3             |                        |                        |                        | SEQ ID NO: 9, X1=R, X2=V, X3=V |                        |                        |                        | SEQ ID NO: 11, X1=S, X2=V |
| hu1C5F12E9-V4             |                        |                        |                        | SEQ ID NO: 9, X1=R, X2=A, X3=R |                        |                        |                        | SEQ ID NO: 11, X1=S, X2=V |
| hu1C5F12E9-V5             |                        |                        |                        | SEQ ID NO: 9, X1=K, X2=A, X3=R |                        |                        |                        | SEQ ID NO: 11, X1=S, X2=V |
| hu1C5F12E9-V6             |                        |                        |                        | SEQ ID NO: 9, X1=K, X2=A, X3=V |                        |                        |                        | SEQ ID NO: 11, X1=S, X2=V |
| hu1C5F12E9-V7             |                        |                        |                        | SEQ ID NO: 8                   |                        |                        |                        | SEQ ID NO: 11, X1=A, X2=H |
| hu1C5F12E9-V8             |                        |                        |                        | SEQ ID NO: 9, X1=R, X2=V, X3=R |                        |                        |                        | SEQ ID NO: 11, X1=A, X2=I |
| hu1C5F12E9-V9             |                        |                        |                        | SEQ ID NO: 9, X1=R, X2=V, X3=V |                        |                        |                        | SEQ ID NO: 11, X1=A, X2=I |
| hu1C5F12E9-V10            |                        |                        |                        | SEQ ID NO: 9, X1=R, X2=A, X3=R |                        |                        |                        | SEQ ID NO: 11, X1=A, X2=I |
| hu1C5F12E9-V11            |                        |                        |                        | SEQ ID NO: 9, X1=K, X2=A, X3=R |                        |                        |                        | SEQ ID NO: 11, X1=A, X2=I |
| hu1C5F12E9-V12            |                        |                        |                        | SEQ ID NO: 9, X1=K, X2=A, X3=V |                        |                        |                        | SEQ ID NO: 11, X1=A, X2=I |
| hu1C5F12E9-V13            |                        |                        |                        | SEQ ID NO: 8                   |                        |                        |                        | SEQ ID NO: 11, X1=S, X2=I |
| hu1C5F12E9-V14            |                        |                        |                        | SEQ ID NO: 9, X1=R, X2=V, X3=R |                        |                        |                        | SEQ ID NO: 11, X1=S, X2=I |
| hu1C5F12E9-V15            |                        |                        |                        | SEQ ID NO: 9, X1=R, X2=V, X3=V |                        |                        |                        | SEQ ID NO: 11, X1=S, X2=I |
| hu1C5F12E9-V16            |                        |                        |                        | SEQ ID NO: 9, X1=R, X2=A, X3=R |                        |                        |                        | SEQ ID NO: 11, X1=S, X2=I |
| hu1C5F12E9-V17            |                        |                        |                        | SEQ ID NO: 9, X1=K, X2=A, X3=R |                        |                        |                        | SEQ ID NO: 11, X1=S, X2=I |
| hu1C5F12E9-V18            |                        |                        |                        | SEQ ID NO: 9, X1=K, X2=A, X3=V |                        |                        |                        | SEQ ID NO: 11, X1=S, X2=I |

В другом варианте реализации антитело к TSLP или его антигенсвязывающая часть в фармацевтической композиции по настоящему изобретению содержит:

(a) CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельной области тяжелой цепи, указанные в Таблице 1; и

(b) CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельной области легкой цепи, указанные в Таблице 1, или CDR другого антитела к TSLP, где антитело специфически связывается с TSLP человека.

В другом варианте осуществления данного изобретения антитело к TSLP или его антигенсвязывающая часть в фармацевтической композиции по настоящему изобретению содержит CDR2 вариабельной области тяжелой цепи антитела к TSLP и CDR других антител, которые связываются с TSLP человека, например, CDR1 и/или CDR3 вариабельной области тяжелой цепи и/или CDR1, CDR2 и/или CDR3 вариабельной области легкой цепи другого антитела к TSLP.

В данной области техники хорошо известно, что независимо от доменов CDR1 и/или CDR2 домены CDR3 могут индивидуально определять специфичность связывания антитела с родственным антигеном, и что множество антител с одинаковой специфичностью связывания могут быть прогностически получены на основе общей последовательности CDR3.

В другом варианте осуществления антитело к TSLP в фармацевтической композиции по настоящему изобретению содержит CDR2 вариабельной области тяжелой цепи антитела к TSLP и по меньшей мере CDR3 вариабельной области тяжелой цепи и/или вариабельной области легкой цепи антитела к TSLP, или CDR3 вариабельной области тяжелой цепи и/или вариабельной области легкой цепи другого антитела к TSLP, где антитело может специфически связываться с TSLP человека. Эти антитела предпочтительно (a) конкурируют с антителом к TSLP в фармацевтической композиции по настоящему изобретению за связывание с TSLP; (b) сохраняют функциональные характеристики; (c) связываются с тем же эпитопом, что и антитело к TSLP в фармацевтической композиции по настоящему изобретению; и/или (d) имеют сходную аффинность связывания с антителом к TSLP в фармацевтической композиции по настоящему изобретению. В другом варианте реализации изобретения антитело к TSLP в

фармацевтической композиции по настоящему изобретению может дополнительно содержать CDR2 вариабельной области легкой цепи антитела к TSLP или CDR2 вариабельной области легкой цепи другого антитела к TSLP, где антитело специфически связывается с TSLP человека. В другом варианте осуществления антитело к TSLP в фармацевтической композиции по настоящему изобретению может дополнительно содержать CDR1 вариабельной области тяжелой цепи и/или вариабельной области легкой цепи антитела к TSLP или CDR1 вариабельной области тяжелой цепи и/или вариабельной области легкой цепи другого антитела к TSLP, где антитело специфически связывается с TSLP человека.

#### Консервативная модификация

В другом варианте осуществления антитело к TSLP в фармацевтической композиции по настоящему изобретению содержит последовательности CDR1, CDR2 и CDR3, которые отличаются от вариабельной области тяжелой цепи и/или вариабельной области легкой цепи антитела к TSLP в фармацевтической композиции по настоящему изобретению, причем различие получено из одной или более консервативных модификаций. В данной области техники следует понимать, что некоторые консервативные модификации последовательности не устраниают антигенсвязывающую способность. См., например, Brummell et al., (1993) *Biochem* 32:1180-8; de Wildt et al., (1997) *Prot. Eng.* 10:835-41; Komissarov et al., (1997) *J. Biol. Chem.* 272:26864-26870; Hall et al., (1992) *J. Immunol.* 149:1605-12; Kelley and O'Connell (1993) *Biochem.*32:6862-35; Adib-Conquy et al., (1998) *Int. Immunol.* 10:341-6 и Beers et al., (2000) *Clin. Can. Res.* 6:2835-43.

Следовательно, в одном варианте реализации изобретения антитело к TSLP в фармацевтической композиции по настоящему изобретению содержит вариабельную область тяжелой цепи и/или вариабельную область легкой цепи, вариабельную область тяжелой цепи и вариабельную область легкой цепи, каждая из которых содержит CDR1, CDR2 и CDR3, где:

(a) CDR1 вариабельной области тяжелой цепи содержит последовательности, перечисленные в Таблице 1, и/или их консервативные модификации; и/или

(b) CDR2 вариабельной области тяжелой цепи содержит последовательности,

перечисленные в Таблице 1, и/или их консервативные модификации; и/или

(с) CDR3 вариабельной области тяжелой цепи содержит последовательности, перечисленные в Таблице 1, и/или их консервативные модификации; и/или

(d) CDR1, и/или CDR2, и/или CDR3 вариабельной области легкой цепи содержат последовательности, перечисленные в Таблице 1; и/или их консервативные модификации; и

(е) антитело специфически связывается с TSLP человека.

Антитело к TSLP в фармацевтической композиции по настоящему изобретению имеет одну или более из следующих функциональных характеристик, таких как высокая аффинность к TSLP человека.

В различных вариантах осуществления антитело к TSLP в фармацевтической композиции по настоящему изобретению может представлять собой, например, мышинное, человеческое, химерное антитело или гуманизированное антитело.

Термин "консервативная модификация последовательности", используемый в настоящем документе, относится к аминокислотной модификации, которая существенно не влияет или не изменяет характеристику связывания антитела. Такие консервативные модификации включают аминокислотные замены, вставки и делеции. Модификации могут быть введены в антитело к TSLP в фармацевтической композиции по настоящему изобретению с использованием стандартных методик, известных в данной области техники, таких как точечная мутация и ПЦР-опосредованная мутация. Консервативные аминокислотные замены представляют собой замены, в которых аминокислотный остаток заменен аминокислотным остатком, имеющим схожую боковую цепь. Группы аминокислотных остатков, имеющие сходные боковые цепи, известны в данной области техники. Следовательно, один или более аминокислотных остатков в CDR антитела к TSLP в фармацевтической композиции по настоящему изобретению могут быть заменены другими аминокислотными остатками из той же группы боковой цепи, и полученное антитело может быть функционально протестировано с использованием функциональных анализов, описанных в настоящем документе.

Способы получения и очистки антитела к TSLP по настоящему изобретению описаны в PCT/CN2020/113289, полное содержание которой включено в настоящий

документ посредством ссылки.

Для ясности, настоящее изобретение дополнительно описано следующими примерами, которые, однако, не предназначены для ограничения объема настоящего изобретения. Антитело 1C5F12E9 к TSLP в примерах представляет собой антитело 1C5F12E9 из PCT/CN2020/113289, где мышинное антитело 1C5F12E9 к TSLP было образовано с помощью гибридной технологии, как описано в PCT/CN2020/113289, и было получено путем функционального скрининга *in vitro*.

#### Пример 1: Гуманизация моноклональных антител мыши к TSLP

Мышиное антитело 1C5F12E9 к TSLP гуманизировали. Гуманизацию мышиных антител проводили с использованием установленного способа прививки CDR, как описано ниже. Для выбора рецепторного скелета для гуманизации мышинного антитела 1C5F12E9 последовательности переменных областей легкой и тяжелой цепей антитела вместе с базой генов иммуноглобулинов человека подвергали основному локальному поиску выравнивания с использованием BLAST. Антитело зародышевой линии человека, имеющее наивысшую гомологию с антителом мыши, выбирали в качестве скелета гуманизованного рецептора. CDR переменной области тяжелой/легкой цепи мышинного антитела встраивали в выбранный скелет, и дополнительные остатки в скелете мутировали с получением большего количества переменных областей-кандидатов тяжелой/легкой цепи. В общей сложности было получено 18 иллюстративных гуманизованных антител 1C5F12E9, а именно от hu1C5F12E9-V1 до hu1C5F12E9-V18, последовательности переменной области тяжелой/легкой цепи которых показаны в Таблице 1.

Были сконструированы векторы, содержащие переменную область тяжелой цепи, кодирующую гуманизованный 1C5F12E9, и константную область тяжелой цепи IgG4 человека (SEQ ID NO: 13), а также векторы, содержащие переменную область легкой цепи гуманизованного 1C5F12E9 и константную область легкой цепи к человека (SEQ ID NO: 14), и векторы были временно трансфицированы в 50 мл суспензионных клеток 293F в соотношении 60% конструкции легкой цепи к 40% конструкции тяжелой цепи с использованием 1 мг/мл PEI. После шести дней культивирования во встряхиваемой колбе собирали клеточные супернатанты, содержащие гуманизованные антитела, клетки в

супернатантах осаждали центрифугированием, и затем вышеупомянутые 18 антител очищали от клеточных супернатантов.

Пример 2: Характеристика типовых гуманизированных моноклональных антител к TSLP

Аффинность связывания и кинетику связывания очищенного типового гуманизированного антитела 1C5F12E9 с TSLP человека оценивали с использованием системы Biacore T200 (GE Healthcare, Питтсбург, штат Пенсильвания, США).

Вкратце, внутренне синтезированный рекомбинантный белок TSLP-his человека (SEQ ID NO: 28) или TSLP-his яванского макака (SEQ ID NO: 29) растворяли в буфере  $\text{CH}_3\text{COONa}$  (предоставленном Biacore) в конечной концентрации 10 мкг/мл, а затем ковалентно связывали с чипом CM5 (чип, покрытый карбоксиметилированным декстраном, GE Healthcare #BR100530) через первичные аминовые группы с использованием стандартного набора для связывания аминов, предоставленного Biacore (GE Healthcare, Питтсбург, штат Пенсильвания, США). Не прореагировавшие части на поверхности биосенсора блокировали этаноламином. Затем последовательно разбавленное очищенное гуманизированное антитело 1C5F12E9 (последовательно разбавленное в 2 раза от начальной концентрации 100 нМ в HBS-EP плюс буфер) и эталонный тезепелумаб (также известный как TSLP-ВМ, полученный собственными силами с использованием тяжелой и легкой цепей, приведенных в SEQ ID NO: 35 и 36, последовательно разбавленный в 2 раза от начальной концентрации 100 нМ в HBS-EP плюс буфер) пропускали через чип со скоростью потока 50 мкл/мин, соответственно. Кинетику связывания антиген-антитело отслеживали в течение 4 мин, а кинетику диссоциации - в течение 13 мин. Кривые ассоциации и диссоциации подгоняли к модели связывания Ленгмюра 1:1 с использованием программного обеспечения для оценки Biacore и измеряли значения  $K_D$ ,  $K_a$  и  $K_d$ . Результаты приведены в Таблице 2 ниже.

Таблица 2. Аффинность связывания гуманизированного моноклонального антитела 1C5F12E9

| МАТ | Кинетика Biacore                   |                    |       |
|-----|------------------------------------|--------------------|-------|
|     | TSLP человека                      |                    |       |
|     | $K_a$                              | $K_d$              | $K_D$ |
|     | (M <sup>-1</sup> s <sup>-1</sup> ) | (s <sup>-1</sup> ) | (M)   |
|     |                                    |                    |       |

|                      |          |                      |           |
|----------------------|----------|----------------------|-----------|
| hu1C5F12E9-V1        | 9,93E+04 | 9,07E-08 (<1,00E-05) | <1,01E-10 |
| hu1C5F12E9-V3        | 1,03E+05 | 1,94E-08 (<1,00E-05) | <9,71E-11 |
| hu1C5F12E9-V5        | 1,03E+05 | 7,89E-08 (<1,00E-05) | <9,71E-11 |
| hu1C5F12E9-V7        | 1,08E+05 | 3,16E-08 (<1,00E-05) | <9,26E-11 |
| hu1C5F12E9-V9        | 1,22E+05 | 6,57E-07 (<1,00E-05) | <8,20E-11 |
| hu1C5F12E9-V11       | 9,07E+04 | 7,56E-07 (<1,00E-05) | <1,10E-10 |
| hu1C5F12E9-V12       | 9,61E+04 | 5,30E-08 (<1,00E-05) | <1,04E-10 |
| hu1C5F12E9-V13       | 1,04E+05 | 3,62E-07 (<1,00E-05) | <9,62E-11 |
| hu1C5F12E9-V14       | 1,05E+05 | 3,21E-06 (<1,00E-05) | <9,56E-11 |
| hu1C5F12E9-V15       | 1,12E+05 | 3,63E-06 (<1,00E-05) | <8,93E-11 |
| hu1C5F12E9-V16       | 1,04E+05 | 1,17E-06 (<1,00E-05) | <9,62E-11 |
| hu1C5F12E9-V17       | 1,10E+05 | 6,43E-06 (<1,00E-05) | <9,09E-11 |
| hu1C5F12E9-V18       | 1,21E+05 | 9,65E-06 (<1,00E-05) | <8,26E-11 |
| Химерное<br>1C5F12E9 | 6,96E+04 | 6,36E-05             | 9,14E-10  |
| Тезепелумаб          | 1,99E+05 | 1,62E-04             | 8,15E-10  |

мАТ – моноклональное антитело.

Нижний предел значения  $K_d$  для измерений Вiascore составляет  $1,00E-05$ , а значения  $K_d$  ниже  $1,00E-05$  могут быть примерно рассчитаны по соответствующим сенсограммам. Результаты показывают, что все гуманизированные антитела 1C5F12E9 имеют более высокую аффинность связывания с TSLP человека, чем тезепелумаб.

Пример 3: Характеристика гуманизированных антител к TSLP hu1C5F12E9-V8 и hu1C5F12E9-V14

Для дальнейшей характеристики были выбраны гуманизированные антитела hu1C5F12E9-V8 и hu1C5F12E9-V14. В частности, аффинность/способность связывания антител с TSLP человека и яванского макака, а также другие их функции определяли с использованием Вiascore, захватывающего ELISA, непрямого ELISA, конкурентного ELISA, FACS (сортировка флуоресцентно-активированных клеток), блокирующем клеточный лиганд и функциональных анализов на основе клеток, как в примере 2 и способе ниже, и результаты показаны в Таблице 3 ниже и на фиг. 1-5 и 6А-6В.

Для захвата ELISA 2 мкг/мл аффинного очищенного козьего антитела к IgG человека, растворенного в PBS (фосфатно-солевой буферный раствор) (Jackson Immuno

Research, 109-005-098), покрывали в 96-луночном планшете по 100 мкл/лунку и инкубировали в течение ночи при 4 °С. Планшет промывали 4 раза промывочным буфером (PBS плюс 0,05% Tween-20, PBST (фосфатно-солевой буфер с твином), а затем блокировали при 37 °С в течение 2 часов путем добавления 200 мкл блокирующего буфера (PBST, содержащего 5% мас./об. обезжиренного молока) на лунку. Планшет снова промывали, добавляли гуманизированное антитело к TSLP, тезепелумаб или hIgG по настоящему изобретению (Hualan Biological Engineering Inc.), последовательно разбавляли по 100 мкл/лунку (из начальной концентрации 66,7 нМ, последовательно разбавляли в 5 раз в PBST, содержащем 2,5% обезжиренного молока), инкубировали в течение 40 мин при 37 °С, а затем снова промывали 4 раза. В 96-луночный планшет с захватывающими антителами добавляли меченный биотином белок TSLP-his человека (SEQ ID NO: 28, приготовленный собственными силами, растворенный в PBST, содержащем 2,5% обезжиренного молока, при конечной концентрации 0,23 нМ) по 100 мкл/лунку, инкубировали при 37 °С в течение 40 минут, промывали 4 раза, а затем добавляли 100 мкл меченного HRP стрептавидина (разбавленного при 1:10000 в PBST, Jackson Immuno Research, 016-030-084) на лунку и инкубировали при 37 °С в течение 40 минут. После последней промывки в планшет добавляли ТМВ (триметилбензол) (Innogeagents) по 100 мкл/лунку для инкубации. Через 15 мин реакцию останавливали добавлением 1 М H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> по 50 мкл/лунку при комнатной температуре, и считывали оптическую плотность (ОП) каждой лунки на считывателе микропланшетов, используя режим с двойной длиной волны (длина волны обнаружения ТМВ: 450 нм, эталонная длина волны: 630 нм). Построение графиков проводили с использованием значений ОП (450-630) и соответствующих концентраций антител. Данные анализировали с использованием программного обеспечения Graphpad Prism и получали значения EC<sub>50</sub>. Результаты для некоторых антител показаны на фиг. 1.

Для непрямого ИФА 96-луночный планшет покрывали 2 мкг/мл белка TSLP-his яванского макака (SEQ ID NO: 29, приготовленного собственными силами), растворенного в карбонатно-бикарбонатном буфере (pH 9,6), по 100 мкл/лунку, и инкубировали в течение ночи при 4 °С. Планшет промывали 4 раза промывочным буфером (PBS плюс 0,05% Tween-20, PBST), а затем блокировали при 37 °С в течение 2

часов путем добавления 200 мкл блокирующего буфера (PBST, содержащего 5% мас./об. обезжиренного молока) на лунку. Планшет снова промывали и добавляли гуманизированное антитело к TSLP, тезепелумаб или hIgG по настоящему изобретению, последовательно разбавляли при 100 мкл/лунку (последовательно разбавляли в 5 раз от начальной концентрации 66,7 нМ в PBST, содержащем 2,5% обезжиренного молока), а затем инкубировали при 37 °С в течение 40 минут. Планшет снова промывали 4 раза и добавляли меченное пероксидазой аффинно очищенное F(ab')<sub>2</sub> фрагментированное козье антитело к IgG человека (Jackson ImmunoResearch, 109-036-098) в концентрации 100 мкл/лунку, а затем инкубировали при 37 °С в течение 40 минут. После последней промывки в планшет добавляли ТМВ (триметилбензол) (Innoagents) по 100 мкл/лунку для инкубации. Через 15 мин реакцию останавливали добавлением 1 М H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> по 50 мкл/лунку при комнатной температуре, и считывали оптическую плотность (ОП) каждой лунки на считывателе микропланшетов, используя режим с двойной длиной волны (длина волны обнаружения ТМВ: 450 нм, эталонная длина волны: 630 нм). Построение графиков проводили с использованием значений ОП (450-630) и соответствующих концентраций антител. Данные анализировали с использованием программного обеспечения Graphpad Prism и получали значения EC<sub>50</sub>. Результаты для некоторых антител показаны на фиг. 2.

Способность гуманизированных антител к TSLP блокировать связывание TSLP с TSLPR/IL7R определяли с использованием конкурентного ELISA. Вкратце, белок TSLPR-Fc (SEQ ID NO: 30, полученный собственными силами) растворяли в PBS в конечной концентрации 1 мкг/мл, белок IL7Ra-Fc (SEQ ID NO: 31, полученный собственными силами) растворяли в PBS в конечной концентрации 1 мкг/мл и 96-луночный планшет покрывали двумя растворами (по 100 мкл каждый) и инкубировали в течение ночи при 4 °С. На следующий день планшет промывали промывочным буфером (PBS плюс 0,05% Tween-20, PBST), добавляли PBST, содержащий 5% мас./об. обезжиренного молока, и блокировали при 37 °С в течение 2 часов. Затем планшет промывали промывочным буфером. Гуманизированное антитело к TSLP или контроль разбавляли меченым биотином TSLP-Fc человека (SEQ ID NO: 32, приготовленным собственными силами, растворяли в PBST, содержащем 2,5% обезжиренного молока, в конечной концентрации 0,29 нМ), серийно разбавляли в 3 раза от начальной

концентрации 66,7 нМ и инкубировали при комнатной температуре в течение 40 мин. Затем смесь антитело/TSLP-Fc добавляли в планшет, покрытый TSLPR/IL7R, по 100 мкл/лунку. После инкубации при 37 °С в течение 40 мин планшет промывали 4 раза промывочным буфером. Затем добавляли стрептавидин, меченный HRP (пероксидаза хрена), и планшет инкубировали при 37 °С в течение 40 мин для обнаружения меченого биотином TSLP-Fc человека, связанного с TSLPR/IL7R. Планшет снова промывали промывочным буфером. Наконец, добавляли ТМВ, и реакцию останавливали с помощью 1 М H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Оптическое поглощение каждой лунки считывали на считывателе микропланшетов с использованием режима с двумя длинами волн (длина волны обнаружения ТМВ: 450 нм, длина эталонной волны: 630 нм). Затем строили график с использованием значений ОП (450-630) и соответствующих концентраций антител. Данные анализировали с использованием программного обеспечения Graphpad Prism и получали значения IC<sub>50</sub>. Результаты для некоторых антител показаны на фиг. 3.

Способность гуманизированного антитела к TSLP блокировать связывание эталона (тезепелумаба) с TSLP человека определяли с использованием конкурентного ELISA. Вкратце, 96-луночный планшет покрывали 2 мкг/мл тезепелумаба в PBS по 100 мкл/лунку и инкубировали в течение ночи при 4 °С. На следующий день планшет промывали промывочным буфером (PBS плюс 0,05% Tween-20, PBST), добавляли PBST, содержащим 5% мас./об. обезжиренного молока, и блокировали при 37 °С в течение 2 часов. Между тем, антитело к TSLP или контроль разбавляли TSLP-Fc человека, меченным биотином (SEQ ID NO: 32, растворенным в PBST, содержащем 2,5% обезжиренного молока, в конечной концентрации 0,047 нМ), серийно разбавляли в 4 раза от начальной концентрации 40 нМ и инкубировали при комнатной температуре в течение 40 мин. Затем смесь антитело/TSLP-Fc-биотин добавляли в 96-луночный планшет, покрытый эталоном, по 100 мкл/лунку. После инкубации при 37 °С в течение 40 мин планшет промывали 4 раза промывочным буфером. Затем добавляли меченный HRP стрептавидин и планшет инкубировали при 37 °С в течение 40 мин для обнаружения меченого биотином TSLP-Fc человека, связанного с эталоном. Наконец, планшет промывали промывочным буфером. Добавляли ТМВ, и реакцию останавливали с помощью 1 М H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Оптическое поглощение каждой лунки считывали на считывателе микропланшетов с использованием

режима с двумя длинами волн (длина волны обнаружения ТМВ: 450 нм, длина эталонной волны: 630 нм). Затем строили график с использованием значений ОП (450-630) и соответствующих концентраций антител. Данные анализировали с использованием программного обеспечения Graphpad Prism и получали значения IC<sub>50</sub>. Результаты для некоторых антител показаны на фиг. 4.

В анализе FACS, блокирующем клеточный лиганд, с использованием проточной цитометрии (FACS) активность гуманизированного антитела к TSLP для блокирования связывания белка TSLP-Fc с клеточной поверхностью TSLPR/IL7R оценивали с использованием клеточной линии BAF3-3E6, клеточная поверхность которой экспрессирует TSLPR человека (аминокислотные остатки 1-371 uniprot № Q9HC73.1, SEQ ID NO: 33) и IL7R человека (аминокислотные остатки 1-459 из uniprot № P16871.1, SEQ ID NO: 34). В соответствии с инструкциями реагента для трансфекции липофектамина 3000 (Thermo Fisher) клетки BAF3 (iCell Bioscience Inc., MIMCL-021) трансфицировали рекомбинантной плазмидой pCMV-T-P (вставка кодирующей последовательности TSLPR между сайтами EcoRI и XbaI) и рекомбинантной плазмидой pCMV3-SP (вставка кодирующей последовательности IL7R между HindIII и XbaI) для получения клеточной линии BAF3-3E6. Вкратце, антитело к TSLP по настоящему изобретению, эталон или отрицательный контроль hIgG (человеческий иммуноглобулин для внутривенной инъекции (pH 4) (Hualan Biological Engineering Inc.)) разбавляли раствором TSLP-Fc человека (SEQ ID NO: 32, приготовленный собственными силами, растворяли в буфере FACS в конечной концентрации 0,38 нМ), серийно разбавляли в 2 раза от начальной концентрации 30 нМ и инкубировали при комнатной температуре в течение 40 минут. Клетки BAF3-3E6 собирали из колб для культивирования клеток, дважды промывали, а затем ресуспендировали в фосфатно-солевом буфере (PBS), содержащем 2% об./об. фетальной бычьей сыворотки (буфер FACS). В 96-луночный планшет, содержащий  $1 \times 10^5$  клеток/лунку, добавляли смесь антитело/TSLP-Fc-биотин по 100 мкл/лунку и инкубировали при 4 °C в течение 40 минут. Клетки дважды промывали буфером FACS, затем добавляли стрептавидин, меченный R-фикоэритрином (разбавленный при 1:1000 в буфере FACS, Jackson Immunoresearch, 016-110-084), по 100 мкл/лунку и инкубировали при 4 °C в течение 40 минут в темноте. Клетки дважды промывали и ресуспендировали в

буфере FACS. Значения флуоресценции измеряли с использованием Becton Dickinson FACS Canto II-HTS. Данные анализировали с использованием программного обеспечения Graphpad Prism и получали значения IC<sub>50</sub>. Результаты для некоторых антител показаны на фиг. 5.

Пролиферация и выживаемость клеток BAF3, как правило, зависели от IL-3. Однако, когда эти клетки были сконструированы для экспрессии как TSLPR человека, так и IL7R человека, и TSLP добавляли в среду для культивирования клеток, они могли выживать в отсутствие IL-3. Используя способ для клеточных функциональных анализов, дополнительно тестировали ингибирующую активность гуманизированных антител к TSLP против пролиферации клеток BAF3-3E6, экспрессирующих TSLPR (SEQ ID NO: 33)/IL7R (SEQ ID NO: 34). Вкратце, 100 мкл среды RPMI1640 (Gibco, A10491-01), содержащей  $8 \times 10^3$  клеток BAF3-3E6 в логарифмической фазе роста, высевали на 96-луночный планшет, где среда RPMI1640 содержит 10% FBS (Gibco, A10099-141). Затем 50 мкл белка TSLP-his человека (SEQ ID NO: 28, полученного собственными силами, растворенного в RPMI-1640, в конечной концентрации 6,4 нг/мл) смешивали с 50 мкл гуманизированного антитела к TSLP или контроля (последовательно разбавленного в 5 раз от начальной концентрации 40 мкг/мл), и смесь инкубировали при комнатной температуре в течение 30 мин. Затем добавляли в 96-луночный планшет, содержащий клетки BAF3-3E6, смесь антитела/TSLP-his по 100 мкл/лунку и культивировали при 37 °C в течение 72 часов в инкубаторе, содержащем CO<sub>2</sub>. После этого 96-луночный планшет, содержащий клетки, инкубировали с набором для анализа жизнеспособности люминесцентных клеток Cell Titer-Glo® (Promega, G7572, 50 мкл/лунку) при 37 °C в течение 10 мин. Значения хемилюминесценции измеряли с использованием Tecan Infinite® 200 Pro. Данные анализировали с использованием программного обеспечения Graphpad Prism и получали значения IC<sub>50</sub>. Результаты для некоторых антител показаны на фиг. 6А-6В.

Данные показывают, что hu1C5F12E9-V8 и hu1C5F12E9-V14 продемонстрировали сопоставимую активность *in vitro* с исходными мышинными и химерными антителами.

Как показано в таблице 3, на фиг. 1 и фиг. 2, аффинность/активность связывания гуманизированных антител hu1C5F12E9-V8 и hu1C5F12E9-V14 с TSLP человека была

выше, чем у эталона, а аффинность/активность связывания гуманизированных антител hu1C5F12E9-V8 и hu1C5F12E9-V14 с TSLP яванского макака была сопоставима с таковыми у эталона.

На фиг. 3 и 5 показано, что гуманизированные антитела hu1C5F12E9-V8 и hu1C5F12E9-V14 способны блокировать связывание TSLP человека с TSLPR/IL7R человека.

На фиг. 6A-6B показано, что гуманизированные антитела hu1C5F12E9-V8 и hu1C5F12E9-V14 способны блокировать взаимодействие между TSLP и TSLPR/IL7R, что приводит к блокаде пути TSLP и гибели клеток BAF3-3E6 при низких концентрациях антител, тогда как эталон требовал высоких уровней антител для проявления такой активности.

Таблица 3. Аффинность связывания моноклональных антител hu1C5F12E9-V8 и hu1C5F12E9-V14

| мАТ                  | Кинетика Biacore |           |           |                       |           |           |
|----------------------|------------------|-----------|-----------|-----------------------|-----------|-----------|
|                      | TSLP человека    |           |           | TSLP яванского макака |           |           |
|                      | $K_a$            | $K_d$     | $K_D$     | $K_a$                 | $K_d$     | $K_D$     |
|                      | (1/Mc)           | (s-1)     | (M)       | (1/Mc)                | (s-1)     | (M)       |
| Мышиное<br>1C5F12E9  | 1,04E+05         | <1,00E-05 | <9,66E-11 | 2,89E+05              | <1,00E-05 | <3,46E-11 |
| Химерное<br>1C5F12E9 | 1,93E+05         | <1,00E-05 | <5,17E-11 | 3,83E+05              | <1,00E-05 | <2,61E-11 |
| hu1C5F12E9-V8        | 1,67E+05         | <1,00E-05 | <5,98E-11 | 3,05E+05              | <1,00E-05 | <3,28E-11 |
| hu1C5F12E9-V14       | 1,64E+05         | <1,00E-05 | <6,10E-11 | 3,11E+05              | <1,00E-05 | <3,22E-11 |
| Тезепелумаб          | 4,24E+05         | 9,84E-05  | 2,32E-10  | 8,49E+05              | 5,71E-05  | 6,72E-11  |

После этого сравнивали аффинность/способность связывания гуманизированных антител hu1C5F12E9-V8 и hu1C5F12E9-V14, имеющих константную область тяжелой цепи IgG1 человека (SEQ ID NO: 12) и константную область легкой цепи к человека (SEQ ID NO: 14), с TSLP человека и яванского макака, и аффинность/способность связывания hu1C5F12E9-V8 и hu1C5F12E9-V14, имеющих константную область тяжелой цепи IgG4

человека (SEQ ID NO: 13) и константную область легкой цепи к человека (SEQ ID NO: 14), с TSLP человека и яванского мака, а также другие их функции с использованием Вiasoge, захватывающего ELISA, конкурентного ELISA, FACS, блокирующем клеточный лиганд, клеточных функциональных анализов, клеточных анализов репортерных генов и анализов термического сдвига белка, как в примерах 2-3 и способе ниже. Результаты показаны на фиг. 7-10, 11A-11B, 12A-12B и 13.

Для определения термической стабильности четырех гуманизированных антител к TSLP измеряли  $T_m$  (температура плавления) в анализе термического сдвига белка с использованием набора для определения термической стабильности белка GloMelt™ (Biotium, 33022-T). Вкратце, краситель GloMelt™ размораживали до комнатной температуры. Флакон, содержащий краситель, перемешивали на мешалке и центрифугировали. Затем к 95 мкл PBS добавляли 5 мкл 200× красителя с получением 10× красителя. В реакционную систему добавляли 2 мкл 10× красителя и 10 мкг гуманизированных антител и добавляли PBS к общему объему реакции 20 мкл. Центрифужные пробирки, содержащие краситель и антитела, ненадолго центрифугировали и помещали в термоциклер для ПЦР в реальном времени (Roche, LightCycler 480 II), в котором параметры программы кривой плавления показаны в Таблице 4.

Таблица 4. Параметры для программы кривой плавления

| Стадия                   | Температура | Скорость нагрева | Продолжительность |
|--------------------------|-------------|------------------|-------------------|
| Первоначальное удержание | 25 °C       | нет данных       | 30 с              |
| Кривая плавления         | 25-99 °C    | 0,1 °C/с         | нет данных        |

В клеточном анализе репортерного гена использовали клеточную линию репортерного гена HEK293T-TSLPR/IL7R/STAT5-Luc, чья клеточная поверхность экспрессирует TSLPR человека (SEQ ID NO: 33) и IL7R человека (SEQ ID NO: 34). В соответствии с инструкциями реагента для трансфекции липофектамина 3000 (Thermo

Fisher) клетки HEK293T (ATCC® CRL-11268) трансфицировали рекомбинантной плазмидой pCMV-T-P (вставка кодирующей последовательности TSLPR между сайтами EcoRI и XbaI), рекомбинантной плазмидой pCMV3-SP (вставка кодирующей последовательности IL7R между HindIII и XbaI) и pGL4,52 [luc2P/STAT5RE/Hygro] (Promega) для получения собственных клеток HEK293T-TSLPR/IL7R/STAT5-Luc. Вкратце, клетки HEK293T-TSLPR/IL7R/STAT5-Luc собирали из колб для культивирования клеток. Затем 100 мкл среды DMEM (Gibco, 10566-016), содержащей  $5 \times 10^4$  клеток, высевали на 96-луночный планшет для культивирования клеток (Corning, 30218026), где среда DMEM содержит 10% FBS (Gibco, 10099-141). Между тем, 50 мкл TSLP-his человека (SEQ ID NO: 28, растворенного в среде DMEM, содержащей 10% FBS, в конечной концентрации 160 нг/мл) смешивали с 50 мкл последовательно разведенных антител к TSLP hu1C5F12E9-V8 (IgG1), hu1C5F12E9-V8 (IgG4), hu1C5F12E9-V14 (IgG1), hu1C5F12E9-V14 (IgG4) и тезепелумаба (последовательно разведенных в 5 раз от начальной концентрации 200 мкг/мл в среде DMEM, содержащей 10% FBS), соответственно, и инкубировали смесь при комнатной температуре в течение 30 минут. Затем добавляли в 96-луночный планшет для культивирования клеток смесь антител к TSLP/TSLP-his по 100 мкл/лунку и инкубировали при 37 °C в течение 16-18 ч в инкубаторе, содержащем CO<sub>2</sub>. 100 мкл супернатанта отбрасывали на лунку, а затем добавляли реагент для анализа люциферазы (Promega, E6120) по 50 мкл/лунку. Через 10 мин планшет анализировали с использованием планшет-ридера Tecan Infinite 200Pro. Данные анализировали с использованием программного обеспечения Graphpad Prism и получали значения IC<sub>50</sub>.

Как показано на фиг. 7, 8, 10, 11A-11B и 12A-12B, hu1C5F12E9-V8 (IgG1), hu1C5F12E9-V8 (IgG4), hu1C5F12E9-V14 (IgG1) и hu1C5F12E9-V14 (IgG4) обладали сопоставимой или лучшей активностью *in vitro* по сравнению с тезепелумабом. В частности, как показано на фиг. 11A-11B и 12A-12B, гуманизированные антитела способны блокировать взаимодействие между TSLP и TSLPR/IL7R при концентрациях антител намного ниже эталонной концентрации, что приводит к блокаде пути TSLP и гибели клеток BAF3-3E6.

Как показано на фиг. 13, температуры плавления (T<sub>1</sub>, T<sub>2</sub>) hu1C5F12E9-V8 (IgG1),

hu1C5F12E9-V8 (IgG4), hu1C5F12E9-V14 (IgG1) и hu1C5F12E9-V14 (IgG4) составляли (69,5 °C, 80 °C), (66,5 °C, 76 °C), (69,5 °C, 80 °C) и (66,5 °C, 76 °C), соответственно.

#### Пример 4: Скрининг фармацевтических композиций

Эксклюзионная хроматография (SEC-UPLC): для определения чистоты антител в образце использовали высокоэффективную жидкостную хроматографию Thermo Vanquish F, использовали гелевую хроматографическую колонку Waters ACQUITY Protein BEH SEC Column (200Å), с Waters ACQUITY UPLC Protein BEH SEC Guard Column (200Å) в качестве предварительной колонки, элюирование проводили с 50 ммоль/л фосфатно-солевого буфера, 200 ммоль/л раствора хлорида натрия (pH 7,0) в качестве подвижной фазы, и длина волны обнаружения составляла 280 нм. Содержание высокомолекулярных примесей и мономеров иммуноглобулина рассчитывали в процентах с использованием метода нормализации площади.

Дифференциальная сканирующая калориметрия (ДСК): образец анализировали на температуру разворачивания ( $T_m$ ) с использованием MicroCal VP-Capillary DSC (Malvern) и разбавляли до концентрации 1 мг/мл. Процедура была следующей: начальная температура сканирования составляла 20 °C, конечная температура сканирования составляла 110 °C, и скорость нагрева составляла 60 °C/ч.

Температуру агрегации (TAGg) образца измеряли с помощью Dynaproplate Reader III (Wyatt), образец добавляли в 384-луночный планшет для образцов и планшет герметизировали герметизирующей пленкой. 384-луночный планшет для образцов центрифугировали для удаления пузырьков воздуха, а затем проводили измерение. Процедура была следующей: температурная программа составляла от 35 °C до 85 °C, а время сканирования составляло 5 секунд.

Образцы анализировали на вязкость с помощью вискозиметра HVROC-S (Rheosense), выбирали автоматический режим и регистрировали результаты анализа.

Капиллярный изоэлектрический фокусирующий электрофорез (CIEF): для определения заряженных вариантов образца; аппарат для визуализации капиллярного изоэлектрического фокусирующего электрофореза ProteinSimple iCE3, система быстрой автоматической характеристики и анализа белка Maurice, капиллярный кремнезем с покрытием ProteinSimple и ультрафиолетовый детектор использовали для детекции при

длине волны ультрафиолетовой детекции 280 нм. Время введения образца устанавливали на 60 секунд, время предварительной фокусировки устанавливали на 1 минуту при 1500 В, и время фокусировки устанавливали на 5 минут при 3000 В. Площадь пика заряженных вариантов рассчитывали в процентах с использованием метода нормализации площади пика.

Восстановительный электрофорез CE-SDS (капиллярный электрофорез в присутствии додецилсульфата натрия): система биофармацевтического анализа Beckman Coulter Pa 800 Plus, капилляр из плавленного кварца без покрытия с внутренним диаметром 50 мкм, общей длиной 31 см и эффективной длиной 21 см и детектор PDA использовали для детекции при длине волны детекции 220 нм. Скорректированные площади пиков легкой цепи, тяжелой цепи и негликозилированной тяжелой цепи рассчитывали в процентах с использованием метода нормализации площади. CE-SDS электрофорез в невосстанавливающих условиях: система биофармацевтического анализа Beckman Coulter Pa 800 Plus, капилляр из плавленного кварца без покрытия с внутренним диаметром 50 мкм, общей длиной 31 см и эффективной длиной 21 см и детектор PDA использовали для детекции при длине волны детекции 220 нм. Скорректированную площадь основного пика рассчитывали в процентах с использованием метода нормализации площади.

Биологическую активность обнаруживали с помощью твердофазного иммуноферментного анализа (ELISA), и 96-луночный планшет покрывали 2 мкг/мл белка TSLP (Sinobiological, 16135-H08H) по 100 мкл/лунку и инкубировали в течение ночи при 2-8 °С. После промывки в 96-луночный планшет добавляли 250 мкл блокирующего раствора (3% BSA (бычий сывороточный альбумин) в PBS) на лунку и инкубировали при 25 °С в течение 2 часов. После промывки в 96-луночный планшет добавляли эталонный образец и испытуемый образец (последовательно разбавляли в 4 раза от начальной концентрации 4000 нг/мл до получения в общей сложности 7 концентраций), соответственно, и инкубировали при 25 °С в течение 2 часов, причем эталонным образцом был образец фармацевтической композиции для репрезентативности процесса, и испытуемый образец представлял собой образец фармацевтической композиции, подлежащий испытанию. Способ получения описан ниже. После промывки в 96-луночный планшет добавляли HRP-меченное козье антитело против человеческого

(PekinElmer, NEF802001EA, разбавленное в соответствии с инструкцией) по 100 мкл/лунку и инкубировали при 25 °С в течение 1 ч. После промывки в 96-луночный планшет добавляли 100 мкл ТМВ на лунку и инкубировали при 25 °С в течение 5 минут в темноте. Наконец, добавляли 1 М H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, чтобы остановить развитие цвета, и планшет помещали при комнатной температуре на 5 мин с последующим обнаружением с помощью считывателя микропланшетов. Поглощение измеряли при длине волны 450 нм, принимая 650 нм в качестве эталонной длины волны, и регистрировали результат измерения. Биологическая активность испытуемого образца (%) = (значение EC<sub>50</sub> эталона / значение EC<sub>50</sub> испытуемого образца) × 100%.

Получение буферного агента: натрий-фосфатный буферный агент получали из моногидрата дигидрофосфата натрия (NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>•H<sub>2</sub>O) и додекагидрата гидрофосфата натрия (Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>•12H<sub>2</sub>O), например, 20 мМ натрий-фосфатного буферного агента (рН 6,0) получали из приблизительно 2,54 г/л NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>•H<sub>2</sub>O и приблизительно 0,573 г/л Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>•12H<sub>2</sub>O. Натрий-фосфатный буферный агент получали из безводного ацетата натрия и уксусной кислоты, например, 20 мМ натрий-фосфатного буферного агента (рН 6,0) получали из приблизительно 1,58 г/л безводного ацетата натрия и приблизительно 0,116 г/л уксусной кислоты. Гистидиновый буферный агент получали из L-гистидина и доводили до целевого рН уксусной кислотой, например, 20 мМ гистидинового буферного агента (рН 6,0) получали из приблизительно 3,1 г/л гистидина и доводили до рН 6 уксусной кислотой.

Антитело к TSLP (hu1C5F12E9-V8 (IgG1)', имеющее константную область тяжелой цепи IgG1 человека, указанную в SEQ ID NO: 37, и константную область легкой цепи к человека, указанную в SEQ ID NO: 14), перемещали в исследуемый буферный агент в таблице 5 путем ультрафильтрационного центрифугирования, и после завершения замещения проводили концентрирование и добавляли вспомогательные вещества в соответствии с исследуемыми фармацевтическими композициями в таблице 5, соответственно. После смешивания хорошо фильтровали и стерилизовали, пропуская через фильтрующую мембрану с диаметром пор 0,22 мкм. Значения T<sub>m</sub>, значения Tagg и результаты анализа SEC-UPLC для различных фармацевтических композиций приведены в Таблице 5.

Таблица 5. Результаты анализа  $T_m$ ,  $T_{agg}$ , SEC-UPLC исследованных фармацевтических композиций

| Фармацевтическая композиция  | $T_m$<br>(°C) | $T_{agg}$<br>(°C) | SEC-UPLC(%)                |                           |
|--|---------------|-------------------|----------------------------|---------------------------|
|  |               |                   | Высокомолекулярные примеси | Мономеры иммуноглобулинов |
| 120 мг/мл антитела к TSLP, 20 мМ натрий-фосфатного буферного агента, 200 мМ маннита (36,43 г/л), 0,04% мас./об. полисорбата 80, pH 5,0 | 70,08         | 62,19             | 0,49                       | 99,2                      |
| 120 мг/мл антитела к TSLP, 20 мМ натрий-фосфатного буферного агента, 200 мМ маннита (36,43 г/л), 0,04% мас./об. полисорбата 80, pH 6,0 | 71,60         | 62,37             | 0,55                       | 99,2                      |
| 120 мг/мл антитела к TSLP, 20 мМ натрий-фосфатного буферного агента, 200 мМ маннита (36,43 г/л), 0,04% мас./об. полисорбата 80, pH 7,0 | 72,08         | 61,57             | 0,47                       | 99,3                      |
| 120 мг/мл антитела к TSLP, 20 мМ гистидинового буферного агента, 200 мМ маннита (36,43 г/л), 0,04% мас./об. полисорбата 80, pH 6,0     | 70,10         | 67,40             | 0,49                       | 99,2                      |
| 120 мг/мл антитела к TSLP, 20 мМ натрий-ацетатного буферного агента, 200 мМ маннита (36,43 г/л), 0,04% мас./об. полисорбата 80, pH 6,0 | 71,63         | 63,23             | 0,53                       | 99,2                      |

В качестве примера, гистидиновый буферный агент выбирали в качестве

буферного агента для дальнейшего исследования, и антитело к TSLP (hu1C5F12E9-V8 (IgG1)', имеющее константную область тяжелой цепи IgG1 человека, указанную в SEQ ID NO: 37, и константную область легкой цепи к человека, указанную в SEQ ID NO: 14) заменяли на исследуемый гистидиновый буферный агент в Таблице 6 посредством ультрафильтрационного центрифугирования, и после завершения вытеснения проводили концентрирование и добавляли вспомогательные вещества в соответствии с исследуемыми фармацевтическими композициями в Таблице 6, соответственно. После смешивания хорошо фильтровали и стерилизовали, пропуская через фильтрующую мембрану с диаметром пор 0,22 мкм. Значения  $T_m$ , значения  $T_{agg}$ , вязкости и результаты анализа SEC-UPLC для различных фармацевтических композиций приведены в Таблице 6.

Таблица 6. Результаты анализа  $T_m$ ,  $T_{agg}$ , вязкости и SEC-UPLC исследованных фармацевтических композиций

| Фармацевтическая композиция  | $T_m$<br>(°C) | $T_{agg}$<br>(°C) | SEC-UPLC(%)                           |                                  | Вязкость<br>(мПа·с) |
|--|---------------|-------------------|---------------------------------------|----------------------------------|---------------------|
|  |               |                   | Высоком<br>олекуляр<br>ные<br>примеси | Мономеры<br>иммуноглоб<br>улинов |                     |
| 120 мг/мл антитела к TSLP, 20 мМ гистидинового буферного агента, 200 мМ маннита, 0,02% мас./об. полисорбата 80, pH 5,5 | 68,97         | 64,78             | 0,42                                  | 98,6                             | 8,365               |
| 120 мг/мл антитела к TSLP, 20 мМ гистидинового буферного агента, 200 мМ маннита, 0,02% мас./об. полисорбата 80, pH 6,0 | 70,22         | 66,40             | 0,47                                  | 98,5                             | 9,679               |
| 120 мг/мл антитела к TSLP, 20 мМ гистидинового буферного агента, 200 мМ маннита, 0,02% мас./об. полисорбата 80, pH 6,5 | 71,99         | 64,75             | 0,39                                  | 98,6                             | 11,583              |

|   |       |       |      |      |       |
|---|-------|-------|------|------|-------|
| 120 мг/мл антитела к TSLP, 20 мМ гистидинового буферного агента, 150 мМ аргинина (26,13 г/л), 0,02% мас./об. полисорбата 80, pH 6,0 | 68,29 | 63,48 | 0,44 | 98,6 | 5,092 |
| 120 мг/мл антитела к TSLP, 20 мМ гистидинового буферного агента, 250 мМ пролина (28,78 г/л), 0,02% мас./об. полисорбата 80, pH 6,0  | 69,49 | 64,59 | 0,44 | 98,6 | 5,848 |

В качестве примера, гистидиновый буферный агент выбирали в качестве буферного агента для дальнейшего исследования, и антитело к TSLP (hu1C5F12E9-V8 (IgG1)', имеющее константную область тяжелой цепи IgG1 человека, указанную в SEQ ID NO: 37, и константную область легкой цепи к человека, указанную в SEQ ID NO: 14) заменяли на исследуемый гистидиновый буферный агент в Таблице 7 посредством ультрафильтрационного центрифугирования, и после завершения вытеснения проводили концентрирование и добавляли вспомогательные вещества в соответствии с исследуемыми фармацевтическими композициями в Таблице 7, соответственно. После смешивания хорошо фильтровали и стерилизовали, пропуская через фильтрующую мембрану с диаметром пор 0,22 мкм. Внешний вид, видимые посторонние вещества, биологическая активность, вязкость и результаты анализа SEC-UPLC для различных фармацевтических композиций приведены в таблице 7. Результаты исследований стабильности различных фармацевтических композиций при 2-8 °С приведены в таблице 8.

Таблица 7. Внешний вид, видимые посторонние вещества, биологическая активность, вязкость и результаты анализа SEC-UPLC для исследованных фармацевтических композиций

| Фармацевтическая композиция | Внешний вид | Видимые посторонние вещества | Биологическая активность (%) | SEC-UPLC(%)        |                           | Вязкость (мПа·с) |
|-----------------------------|-------------|------------------------------|------------------------------|--------------------|---------------------------|------------------|
|                             |             |                              |                              | Высокомолекулярные | Мономеры иммуноглобулинов |                  |
|                             |             |                              |                              |                    |                           |                  |

|  |  |  |    | примес<br>и |      |       |
|--|--|--|----|-------------|------|-------|
| 120 мг/мл антитела к<br>TSLP, 20 мМ<br>гистидинового<br>буферного агента, 200<br>мМ маннита, 0,02%<br>мас./об. полисорбата<br>80, рН 5,5 | Бесцветна<br>я<br>прозрачна<br>я<br>жидкость | Нет<br>видимых<br>посторонних<br>веществ | 97 | 1,22        | 96,4 | 7,060 |
| 120 мг/мл антитела к<br>TSLP, 20 мМ<br>гистидинового<br>буферного агента, 200<br>мМ маннита, 0,02%<br>мас./об. полисорбата<br>80, рН 6,0 | Бесцветна<br>я<br>прозрачна<br>я<br>жидкость | Нет<br>видимых<br>посторонних<br>веществ | 94 | 1,44        | 95,8 | 7,810 |
| 120 мг/мл антитела к<br>TSLP, 20 мМ<br>гистидинового<br>буферного агента, 250<br>мМ пролина, 0,02%<br>мас./об. полисорбата<br>80, рН 6,0 | Бесцветна<br>я<br>прозрачна<br>я<br>жидкость | Нет<br>видимых<br>посторонних<br>веществ | 95 | 1,23        | 96,1 | 6,652 |
| 150 мг/мл антитела к<br>TSLP, 20 мМ<br>гистидинового<br>буферного агента, 250<br>мМ пролина, 0,02%<br>мас./об. полисорбата               | Бесцветна<br>я<br>прозрачна<br>я<br>жидкость | Нет<br>видимых<br>посторонних<br>веществ | 95 | 1,33        | 96,0 | 13,07 |

|            |  |  |  |  |  |  |
|------------|--|--|--|--|--|--|
| 80, рН 6,0 |  |  |  |  |  |  |
|------------|--|--|--|--|--|--|

Таблица 8. Результаты исследований стабильности исследованных фармацевтических композиций при 2-8 °С

| Фармацевтическая композиция  | Контрольная точка | Внешний вид                    | Видимые посторонние вещества    | Биологическая активность (%) | SEC-UPLC(%)                |                           |
|--|-------------------|--------------------------------|---------------------------------|------------------------------|----------------------------|---------------------------|
|  |                   |                                |                                 |                              | Высокомолекулярные примеси | Мономеры иммуноглобулинов |
| 120 мг/мл антитела к TSLP, 20 мМ гистидинового буферного агента, 200 мМ маннита, 0,02% мас./об. полисорбата 80, рН 5,5 | 0 дней            | Бесцветная прозрачная жидкость | Нет видимых посторонних веществ | 97                           | 1,22                       | 96,4                      |
|  | Месяц 1           | Бесцветная прозрачная жидкость | Нет видимых посторонних веществ | 88                           | 1,73                       | 98,0                      |
| 120 мг/мл антитела к TSLP, 20 мМ гистидинового буферного агента, 200 мМ маннита, 0,02% мас./об. полисорбата 80, рН 6,0 | 0 дней            | Бесцветная прозрачная жидкость | Нет видимых посторонних веществ | 94                           | 1,44                       | 95,8                      |
|  | Месяц 1           | Бесцветная прозрачная жидкость | Нет видимых посторонних         | 101                          | 1,89                       | 98,0                      |

|  |         |                                      | веществ                                      |     |      |      |
|--|---------|--------------------------------------|--|-----|------|------|
| 120 мг/мл<br>антитела к TSLP,<br>20 мМ<br>гистидинового<br>буферного агента,<br>250 мМ пролина,<br>0,02% мас./об.<br>полисорбата 80,<br>рН 6,0 | 0 дней  | Бесцветная<br>прозрачная<br>жидкость | Нет<br>видимых<br>посторон<br>них<br>веществ | 95  | 1,23 | 96,1 |
|  | Месяц 1 | Бесцветная<br>прозрачная<br>жидкость | Нет<br>видимых<br>посторон<br>них<br>веществ | 100 | 1,61 | 98,1 |
| 150 мг/мл<br>антитела к TSLP,<br>20 мМ<br>гистидинового<br>буферного агента,<br>250 мМ пролина,<br>0,02% мас./об.<br>полисорбата 80,<br>рН 6,0 | 0 дней  | Бесцветная<br>прозрачная<br>жидкость | Нет<br>видимых<br>посторон<br>них<br>веществ | 95  | 1,33 | 96,0 |
|  | Месяц 1 | Бесцветная<br>прозрачная<br>жидкость | Нет<br>видимых<br>посторон<br>них<br>веществ | 102 | 1,84 | 98,0 |

В качестве примера, гистидиновый буферный агент выбирали в качестве буферного агента и пролин выбирали в качестве стабилизатора для дальнейшего исследования, и антитело к TSLP (hu1C5F12E9-V8 (IgG1)', имеющее константную область тяжелой цепи IgG1 человека, указанную в SEQ ID NO: 37, и константную область легкой цепи к человека, указанную в SEQ ID NO: 14) заменяли на исследуемый гистидиновый буферный агент в Таблице 9 (уксусная кислота с рН 5,8) посредством ультрафильтрационного центрифугирования, и после завершения вытеснения проводили концентрирование и добавляли вспомогательные вещества в соответствии с исследуемыми фармацевтическими композициями в Таблице 9, соответственно. После

смешивания хорошо фильтровали и стерилизовали, пропуская через фильтрующую мембрану с диаметром пор 0,22 мкм. Результаты анализа вязкости, SEC-UPLC, CIEF и CE-SDS для различных фармацевтических композиций приведены в таблице 10.

Таблица 9. Исследованные фармацевтические композиции

| Композиция      | F1                       | F2                       |
|-----------------|--------------------------|--------------------------|
| Антитело к TSLP | 150 мг/мл (150 г/л)      | 120 мг/мл (120 г/л)      |
| Гистидин        | 20 ммоль/л (3,1 г/л)     | 20 ммоль/л (3,1 г/л)     |
| Пролин          | 500 ммоль/л (57,56 г/л)  | 400 ммоль/л (46,05 г/л)  |
| Полисорбат 80   | 0,02% мас./об. (0,2 г/л) | 0,02% мас./об. (0,2 г/л) |
| pH              | 5,8                      | 5,8                      |

Таблица 10. Результаты анализа вязкости, SEC-UPLC, CIEF и CE-SDS для исследованных фармацевтических композиций

|  |                                       | F1    | F2   |
|--|---------------------------------------|-------|------|
| Вязкость (мПа•с)   |                                       | 13,62 | 7,51 |
| SEC-UPLC(%)  | Мономеры иммуноглобулинов             | 99,0  | 99,0 |
|  | Высокомолекулярные примеси            | 0,5   | 0,5  |
| Капиллярный изоэлектрический фокусирующий электрофорез (%) | Кислотный пик                         | 19,2  | 19,0 |
|  | Главный пик                           | 74,1  | 74,3 |
|  | Основной пик                          | 6,7   | 6,7  |
| Восстанавливающий электрофорез CE-SDS (%)                  | Тяжелые и легкие цепи иммуноглобулина | 98,3  | 98,1 |
|  | Негликозилированная тяжелая цепь      | 0,9   | 0,8  |
| Не-восстанавливающий                                       | Мономеры                              | 96,9  | 98,2 |

|                            |                  |  |  |
|----------------------------|------------------|--|--|
| электрофорез CE-SDS<br>(%) | иммуноглобулинов |  |  |
|----------------------------|------------------|--|--|

В качестве примера, фармацевтическая композиция F2 в Таблице 9 была выбрана для испытания стабильности при 2-8 °С, а результаты исследований стабильности фармацевтической композиции F2 при 2-8 °С приведены в Таблице 11.

Таблица 11. Результаты исследований стабильности исследованных фармацевтических композиций при 2-8 °С

|  |                            | Время испытания (месяц)         |                                 |                                 |                                 |
|--|----------------------------|---------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|
|  |                            | 0                               | 1                               | 2                               | 3                               |
| Внешний вид  |                            | Бесцветная прозрачная жидкость  | Бесцветная прозрачная жидкость  | Бесцветная прозрачная жидкость  | Бесцветная прозрачная жидкость  |
| Видимые посторонние вещества                               |                            | Нет видимых посторонних веществ |
| SEC-UPLC(%)  | Мономеры иммуноглобулинов  | 99,0                            | 99,0                            | 98,8                            | 98,8                            |
|  | Высокомолекулярные примеси | 0,6                             | 0,6                             | 0,7                             | 0,7                             |
| Капиллярный изоэлектрический фокусирующий электрофорез (%) | Главный пик                | 73,9                            | 72,2                            | 72,1                            | 71,4                            |
|  | Кислотный пик              | 19,2                            | 20,2                            | 20,3                            | 20,4                            |
|  | Основной пик               | 6,9                             | 7,7                             | 7,6                             | 8,1                             |
| Восстанавливающие  | Тяжелые и                  | 98,4                            | 97,9                            | 98,3                            | 98,4                            |

|  |                                  | Время испытания (месяц) |      |      |      |
|--|----------------------------------|-------------------------|------|------|------|
|  |                                  | 0                       | 1    | 2    | 3    |
| Ющий электрофорез CE-SDS (%)                 | легкие цепи иммуноглобулина      |                         |      |      |      |
|  | Негликозилированная тяжелая цепь | 0,8                     | 0,8  | 0,7  | 0,7  |
| Не-восстанавливающий электрофорез CE-SDS (%) | Мономеры иммуноглобулинов        | 96,6                    | 96,6 | 96,9 | 96,7 |
| Биологическая активность (%)                 |                                  | 105                     | 101  | 105  | 92   |

Специалистам в данной области техники также должно быть понятно, что настоящее изобретение может быть реализовано в других конкретных формах без отступления от его сущности или ключевых атрибутов. В приведенном выше описании настоящее изобретение раскрывает только иллюстративные варианты осуществления, и следует понимать, что другие варианты также включены в объем настоящего изобретения. Соответственно, настоящее изобретение не ограничивается конкретными вариантами реализации, подробно описанными в настоящем документе. Скорее, для объема и содержания настоящего изобретения следует сделать ссылку на прилагаемую формулу изобретения.

## ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Фармацевтическая композиция, содержащая: (a) антитело к TSLP (тимический стромальный лимфопоэтин), (b) буферный агент, (c) поверхностно-активное вещество и один или более (d) стабилизаторов, где антитело к TSLP содержит вариабельную область тяжелой цепи, содержащую область VH-CDR1, область VH-CDR2 и область VH-CDR3, и вариабельную область легкой цепи, содержащую область VL-CDR1, область VL-CDR2 и область VL-CDR3, где область VH-CDR1, область VH-CDR2, область VH-CDR3, область VL-CDR1, область VL-CDR2 и область VL-CDR3 содержат: аминокислотные последовательности, указанные в SEQ ID NO: 1, 2, 3, 4, 5 и 6, соответственно.

2. Фармацевтическая композиция по п. 1, где антитело к TSLP содержит вариабельную область тяжелой цепи и вариабельную область легкой цепи, и вариабельная область тяжелой цепи и вариабельная область легкой цепи могут содержать аминокислотную последовательность, выбранную из следующих аминокислотных последовательностей: (1) соответственно, как указано в SEQ ID NO: 7 и 10; (2) соответственно, как указано в SEQ ID NO: 8 и 11 (X1 = S, X2 = V); (3) соответственно, как указано в SEQ ID NO: 9 (X1 = R, X2 = V, X3 = R) и 11 (X1 = S, X2 = V); (4) соответственно, как указано в SEQ ID NO: 9 (X1 = R, X2 = V, X3 = V) и 11 (X1 = S, X2 = V); (5) соответственно, как указано в SEQ ID NO: 9 (X1 = R, X2 = A, X3 = R) и 11 (X1 = S, X2 = V); (6) соответственно, как указано в SEQ ID NO: 9 (X1 = K, X2 = A, X3 = R) и 11 (X1 = S, X2 = V); (7) соответственно, как указано в SEQ ID NO: 9 (X1 = K, X2 = A, X3 = V) и 11 (X1 = S, X2 = V); (8) соответственно, как указано в SEQ ID NO: 8 и 11 (X1 = A, X2 = I); (9) соответственно, как указано в SEQ ID NO: 9 (X1 = R, X2 = V, X3 = R) и 11 (X1 = A, X2 = I); (10) соответственно, как указано в SEQ ID NO: 9 (X1 = R, X2 = V, X3 = V) и 11 (X1 = A, X2 = I); (11) соответственно, как указано в SEQ ID NO: 9 (X1 = R, X2 = A, X3 = R) и 11 (X1 = A, X2 = I); (12) соответственно, как указано в SEQ ID NO: 9 (X1 = K, X2 = A, X3 = R) и 11 (X1 = A, X2 = I); (13) соответственно, как указано в SEQ ID NO: 9 (X1 = K, X2 = A, X3 = V) и 11 (X1 = A, X2 = I); (14) соответственно, как указано в SEQ ID NO: 8 и 11 (X1 = S, X2 = I); (15) соответственно, как указано в SEQ ID NO: 9 (X1 = R, X2 = V, X3 = R) и 11 (X1 = S, X2 = I); (16) соответственно, как указано в SEQ ID NO: 9 (X1 = R, X2 = V, X3 = V) и 11 (X1 =

= S, X2 = I); (17) соответственно, как указано в SEQ ID NO: 9 (X1 = R, X2 = A, X3 = R) и 11 (X1 = S, X2 = I); (18) соответственно, как указано в SEQ ID NO: 9 (X1 = K, X2 = A, X3 = R) и 11 (X1 = S, X2 = I); или (19) соответственно, как указано в SEQ ID NO: 9 (X1 = K, X2 = A, X3 = V) и 11 (X1 = S, X2 = I).

3. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1 или 2, где антитело к TSLP имеет концентрацию 30-300 мг/мл, предпочтительно 50-250 мг/мл, предпочтительно 70-200 мг/мл, более предпочтительно 90-150 мг/мл, наиболее предпочтительно 120-150 мг/мл.

4. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-3, где буферный агент содержит фосфатный буферный агент, гистидиновый буферный агент, ацетатный буферный агент или цитратный буферный агент.

5. Фармацевтическая композиция по п. 4, где фосфатный буферный агент представляет собой натрий-фосфатный буферный агент, ацетатный буферный агент представляет собой натрий-ацетатный буферный агент, и цитратный буферный агент представляет собой натрий-цитратный буферный агент.

6. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-5, где буферный агент имеет концентрацию 1-100 мМ, предпочтительно 2-80 мМ, более предпочтительно 5-60 мМ, наиболее предпочтительно 10-40 мМ.

7. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-6, где поверхностно-активное вещество содержит полисорбат 80 или полисорбат 20.

8. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-7, где поверхностно-активное вещество имеет концентрацию 0,001-0,1% (мас./об.), предпочтительно 0,004-0,08% (мас./об.), более предпочтительно 0,006-0,06% (мас./об.), наиболее предпочтительно 0,008-0,04% (мас./об.).

9. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-8, где стабилизатор содержит трегалозу, маннит, сахарозу, аргинин или его фармацевтически приемлемую соль, глицин или пролин.

10. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-9, где стабилизатор имеет концентрацию 100-1000 мМ, предпочтительно 120-800 мМ, более предпочтительно 150-700 мМ, наиболее предпочтительно 150-600 мМ.

11. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-10, которая имеет рН от 5 до 7, предпочтительно 5,5-7, более предпочтительно 5,5-6,5.

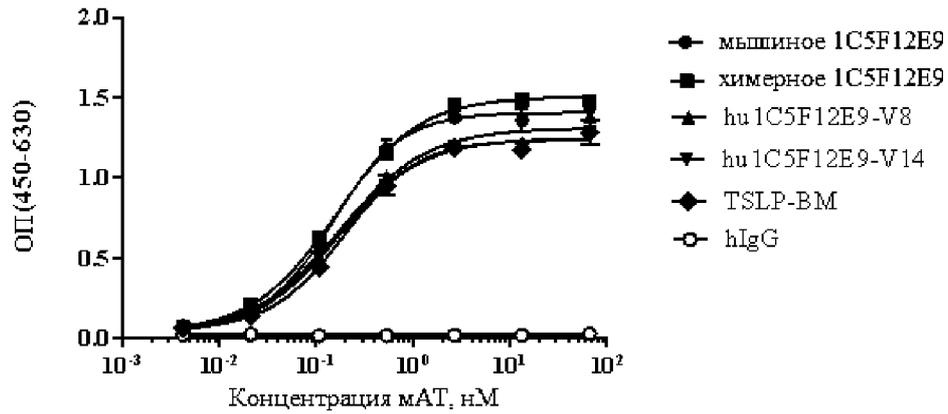
12. Лиофилизированный состав, содержащий антитело к TSLP, причем лиофилизированный состав получают лиофилизацией фармацевтической композиции по любому из пп. 1-11.

13. Лиофилизированный состав, содержащий антитело к TSLP, причем лиофилизированный состав способен образовывать фармацевтическую композицию по любому из пп. 1-11 после восстановления.

14. Изделие, содержащее контейнер, содержащий фармацевтическую композицию по любому из пп. 1-11 или лиофилизированный состав по любому из пп. 12-13.

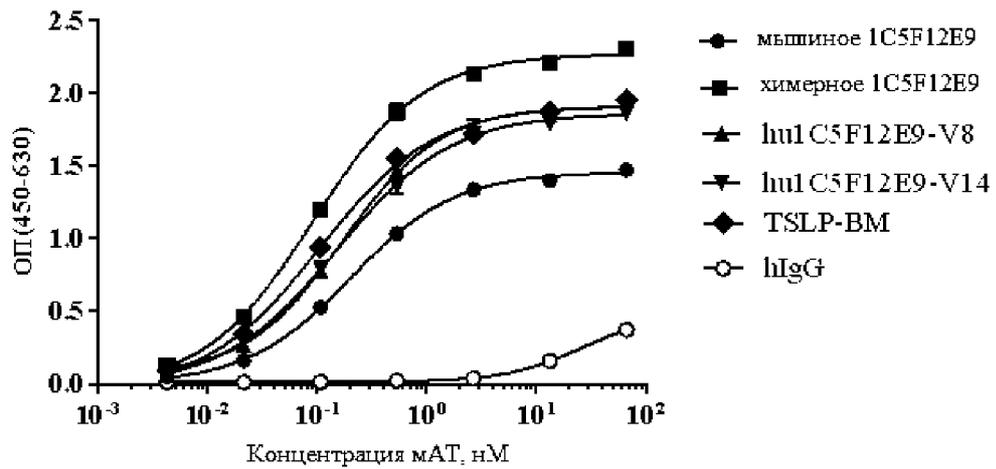
15. Способ лечения и предупреждения заболеваний, связанных с TSLP, включающий введение пациенту, нуждающемуся в этом, терапевтически эффективного количества фармацевтической композиции по любому из пп. 1-11, или лиофилизированного состава по любому из пп. 12-13, или изделия по п. 14.

ФАРМАЦЕВТИЧЕСКАЯ КОМПОЗИЦИЯ, СОДЕРЖАЩАЯ АНТИТЕЛО К TSLP



|      | мышинное 1C5F12E9 | химерное 1C5F12E9 | hu1C5F12E9-V8 | hu1C5F12E9-V14 | TSLP-BM |
|------|-------------------|-------------------|---------------|----------------|---------|
| EC50 | 0.1509            | 0.1606            | 0.1734        | 0.1686         | 0.196   |

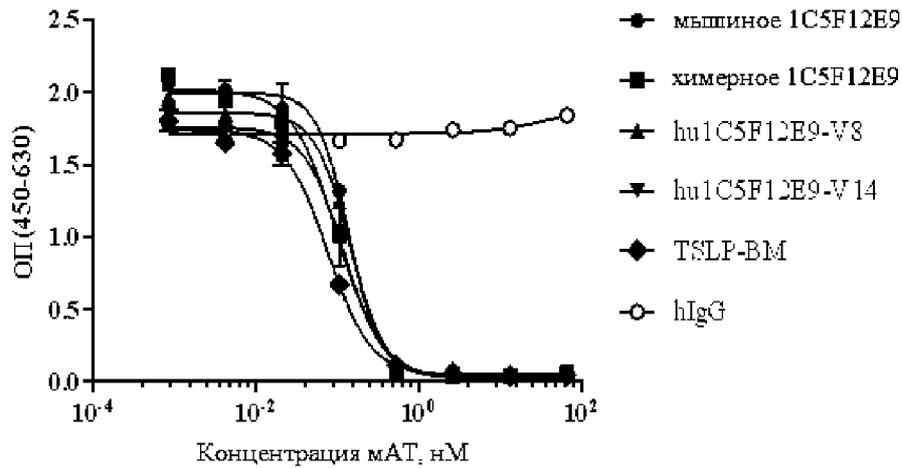
Фиг. 1



|      | мышинное 1C5F12E9 | химерное 1C5F12E9 | hu1C5F12E9-V8 | hu1C5F12E9-V14 | TSLP-BM |
|------|-------------------|-------------------|---------------|----------------|---------|
| EC50 | 0.2015            | 0.09176           | 0.1703        | 0.151          | 0.1052  |

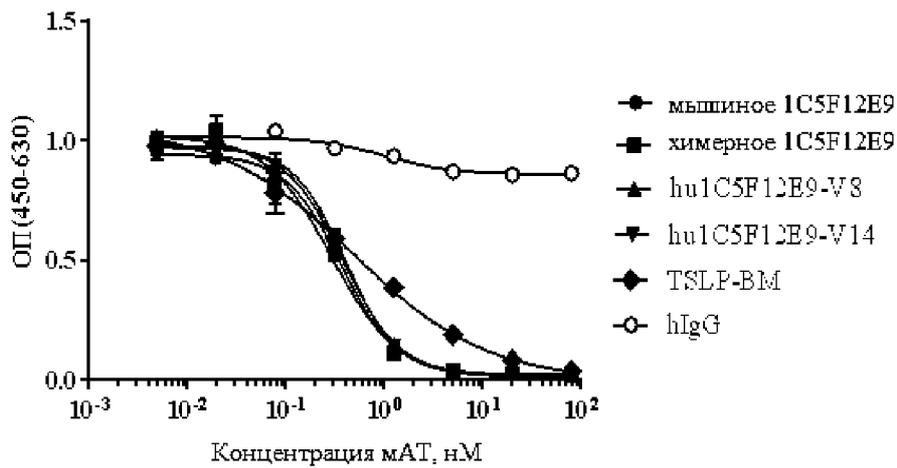
Фиг. 2

ФАРМАЦЕВТИЧЕСКАЯ КОМПОЗИЦИЯ, СОДЕРЖАЩАЯ АНТИТЕЛО К TSLP



|      | мышинное 1C5F12E9 | химерное 1C5F12E9 | hu1C5F12E9-V8 | hu1C5F12E9-V14 | TSLP-BM |
|------|-------------------|-------------------|---------------|----------------|---------|
| IC50 | 0.1391            | 0.1003            | 0.1455        | 0.1229         | 0.0777  |

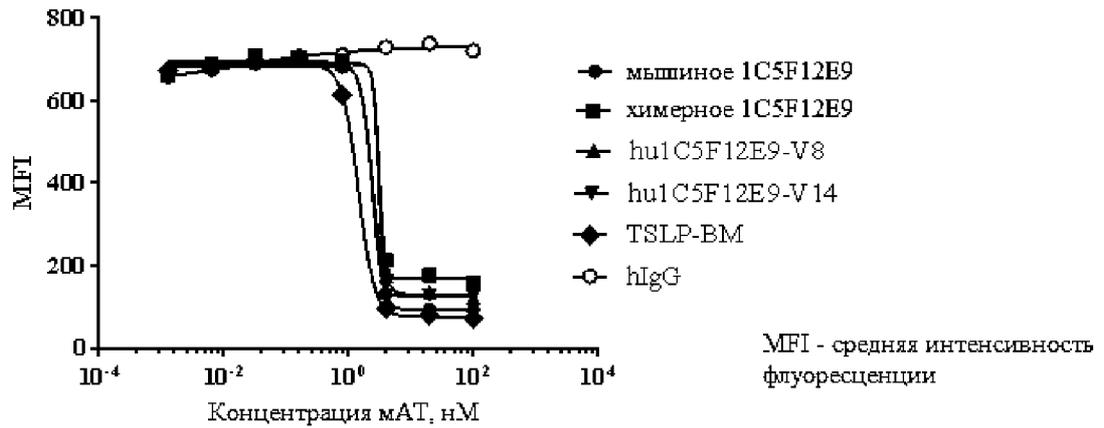
Фиг. 3



|      | мышинное 1C5F12E9 | химерное 1C5F12E9 | hu1C5F12E9-V8 | hu1C5F12E9-V14 | TSLP-BM |
|------|-------------------|-------------------|---------------|----------------|---------|
| IC50 | 0.3656            | 0.291             | 0.3809        | 0.4031         | 0.4862  |

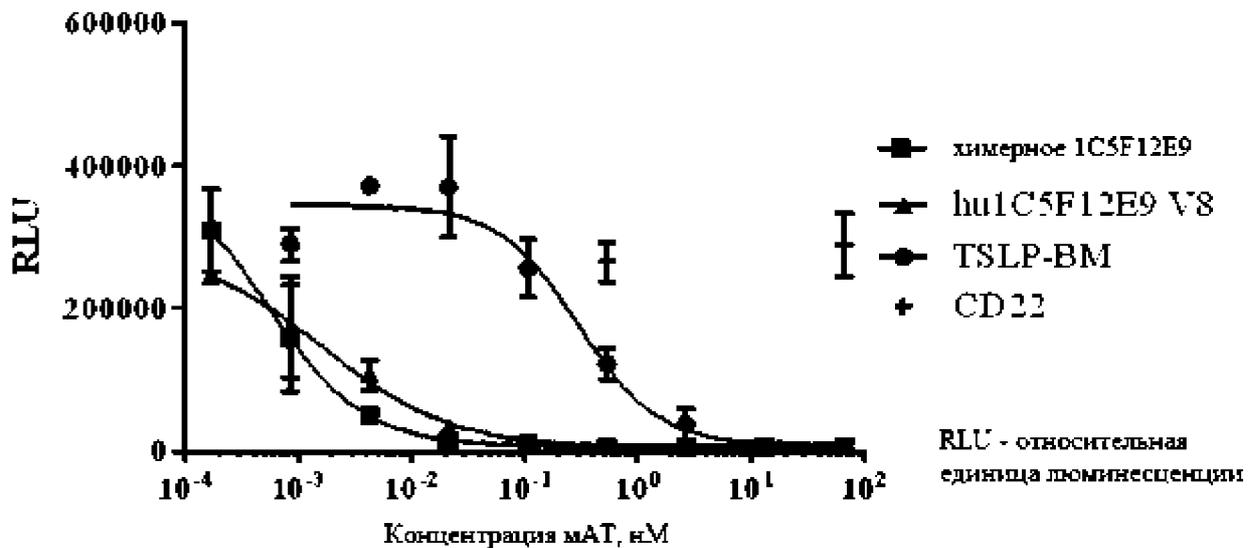
Фиг. 4

ФАРМАЦЕВТИЧЕСКАЯ КОМПОЗИЦИЯ, СОДЕРЖАЩАЯ АНТИТЕЛО К TSLP



|      | мышинное 1C5F12E9 | химерное 1C5F12E9 | hu1C5F12E9-V8 | huC5F12E9-V14 | TSLP-BM |
|------|-------------------|-------------------|---------------|---------------|---------|
| IC50 | 2.406             | ~ 3.121           | 2.38          | ~ 3.071       | 1.446   |

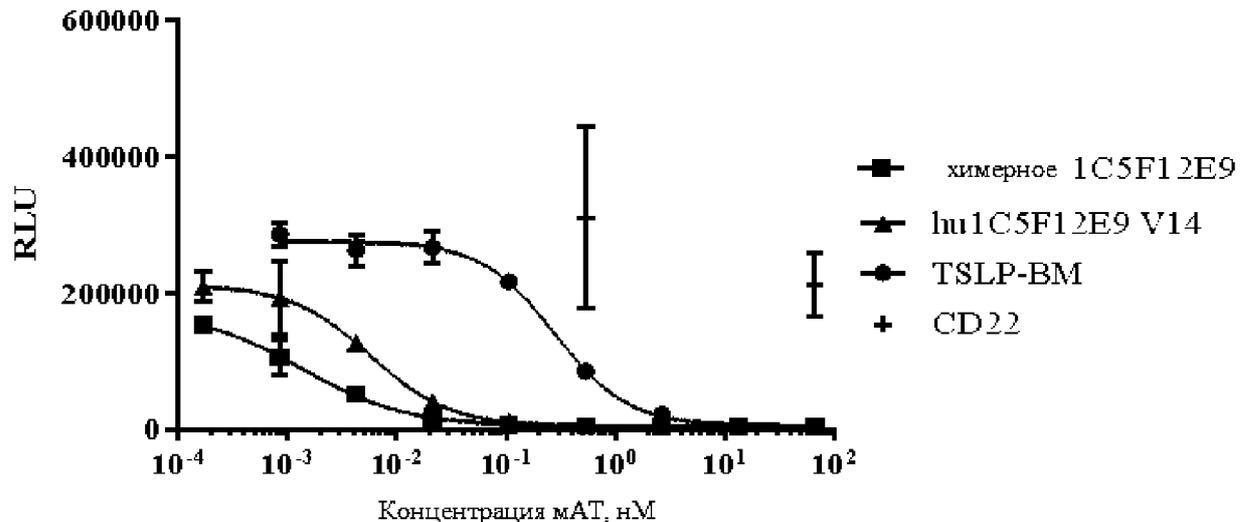
Фиг. 5



|      | химерное 1C5F12E9 | hu1C5F12E9 V8 | TSLP-BM |
|------|-------------------|---------------|---------|
| IC50 | 0.0005214         | 0.001678      | 0.2992  |

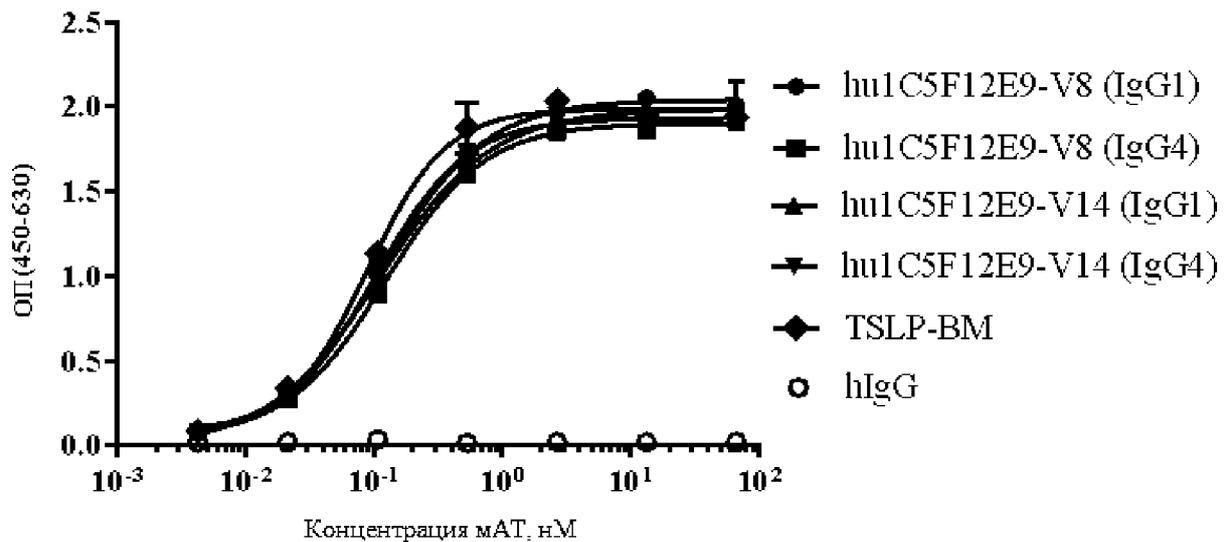
Фиг. 6А

ФАРМАЦЕВТИЧЕСКАЯ КОМПОЗИЦИЯ, СОДЕРЖАЩАЯ АНТИТЕЛО К TSLP



|      | химерное 1C5F12E9 | hu1C5F12E9 V14 | TSLP-BM |
|------|-------------------|----------------|---------|
| IC50 | 0.001367          | 0.005783       | 0.2789  |

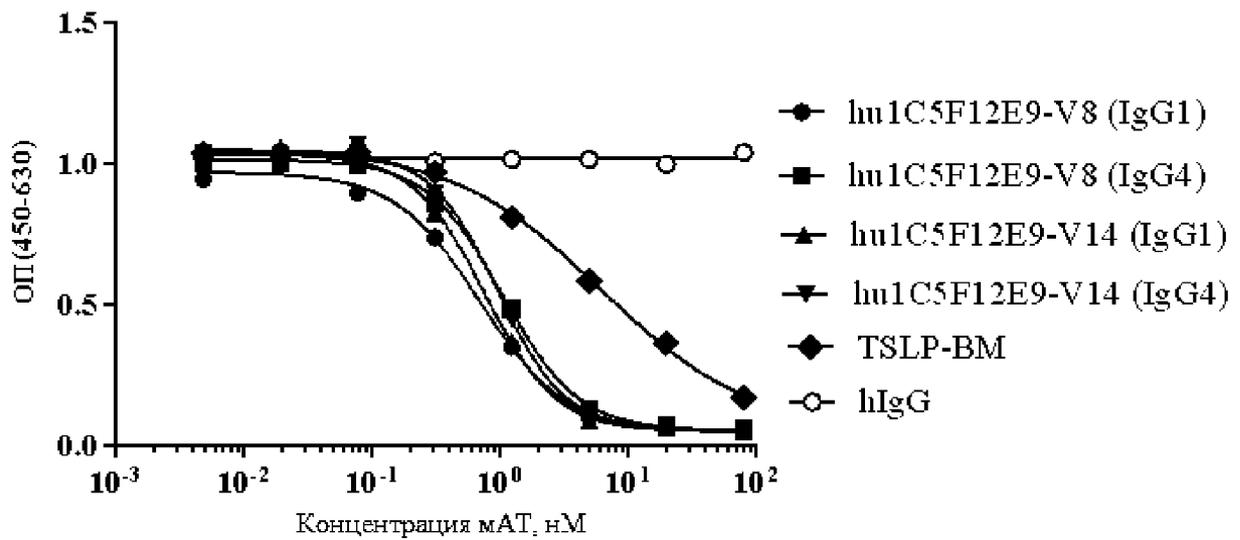
Фиг. 6B



|                       | EC50    |
|-----------------------|---------|
| hu1C5F12E9-V8 (IgG1)  | 0.1159  |
| hu1C5F12E9-V8 (IgG4)  | 0.1238  |
| hu1C5F12E9-V14 (IgG1) | 0.1099  |
| hu1C5F12E9-V14 (IgG4) | 0.1018  |
| TSLP-BM               | 0.08924 |

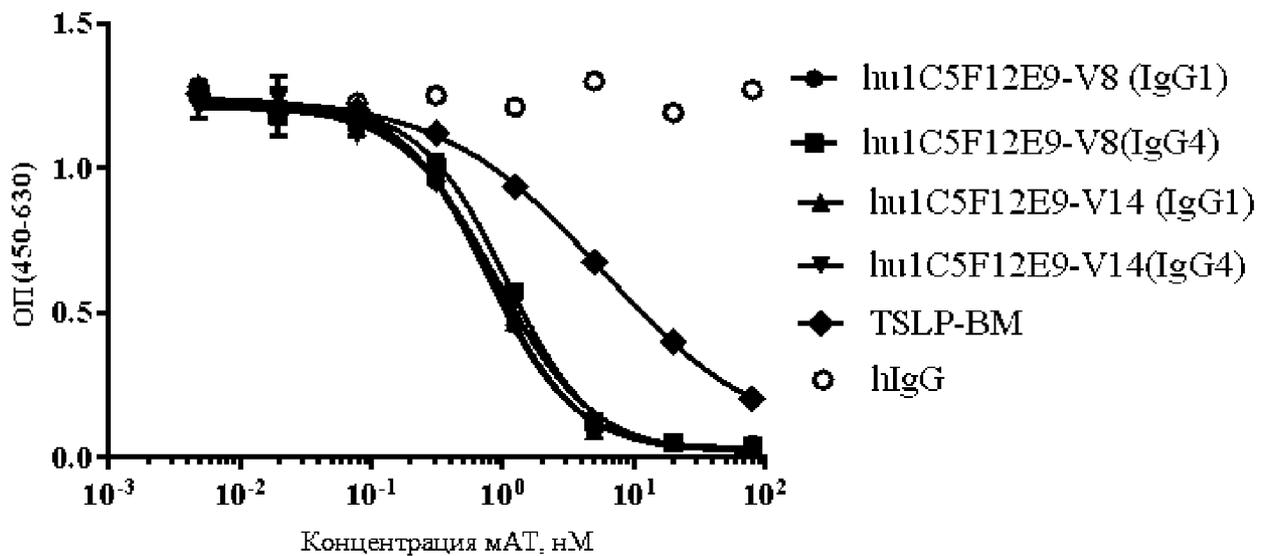
Фиг. 7

## ФАРМАЦЕВТИЧЕСКАЯ КОМПОЗИЦИЯ, СОДЕРЖАЩАЯ АНТИТЕЛО К TSLP



|                       | IC50   |
|-----------------------|--------|
| hu1C5F12E9-V8 (IgG1)  | 0.7073 |
| hu1C5F12E9-V8 (IgG4)  | 1.055  |
| hu1C5F12E9-V14 (IgG1) | 0.7585 |
| hu1C5F12E9-V14 (IgG4) | 0.9581 |
| TSLP-BM               | 6.271  |

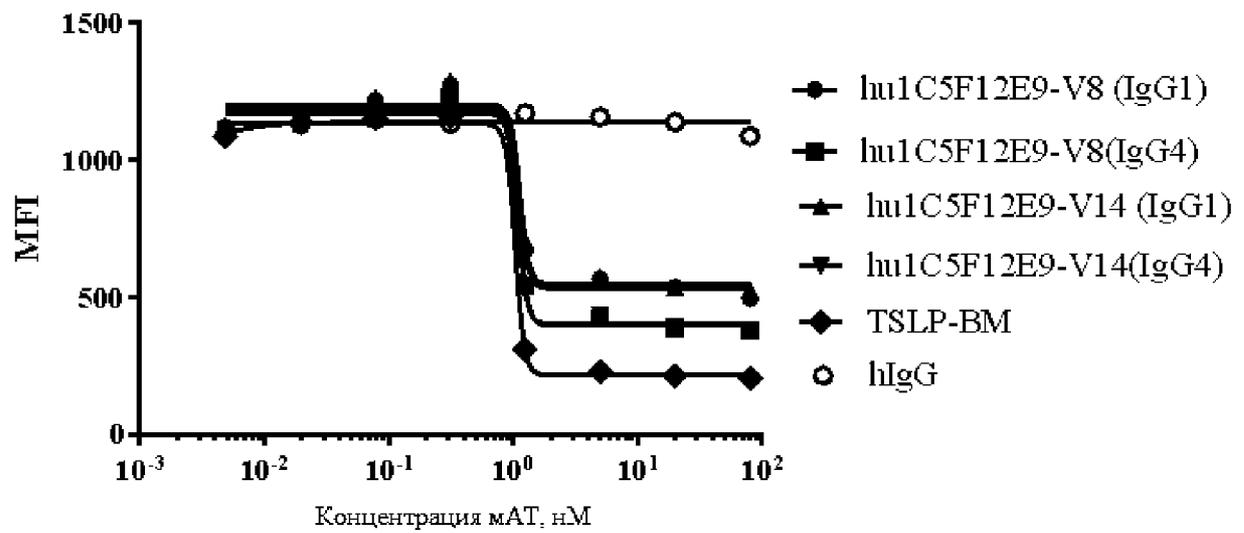
Фиг. 8



|                       | IC50   |
|-----------------------|--------|
| hu1C5F12E9-V8 (IgG1)  | 0.7798 |
| hu1C5F12E9-V8(IgG4)   | 1.064  |
| hu1C5F12E9-V14 (IgG1) | 0.8065 |
| hu1C5F12E9-V14(IgG4)  | 0.9088 |
| TSLP-BM               | 5.785  |

Фиг. 9

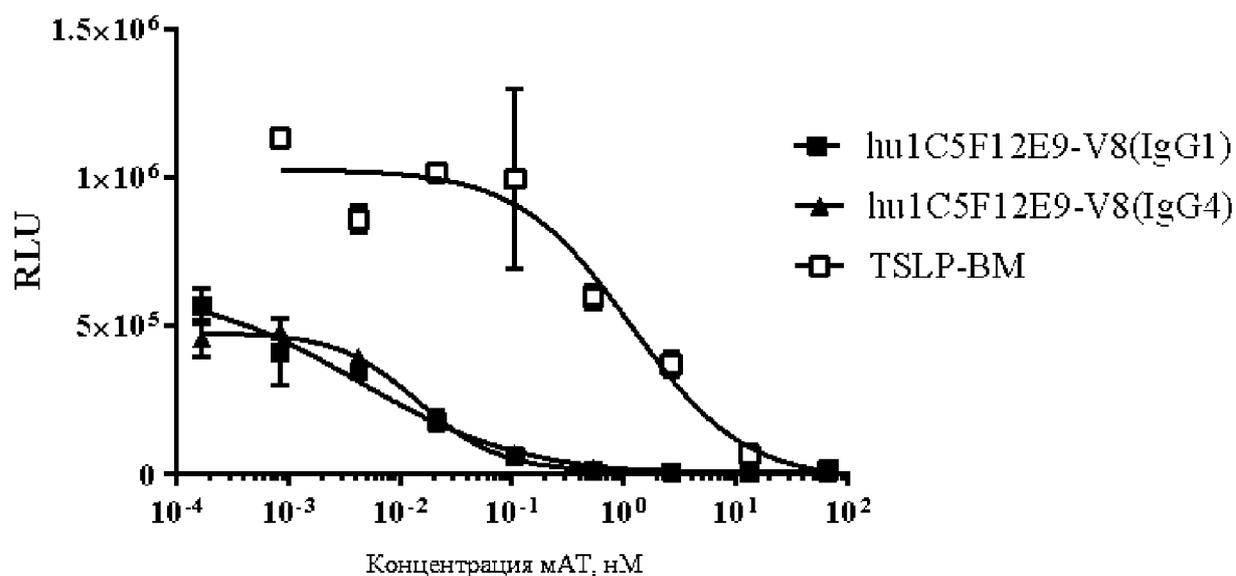
## ФАРМАЦЕВТИЧЕСКАЯ КОМПОЗИЦИЯ, СОДЕРЖАЩАЯ АНТИТЕЛО К TSLP



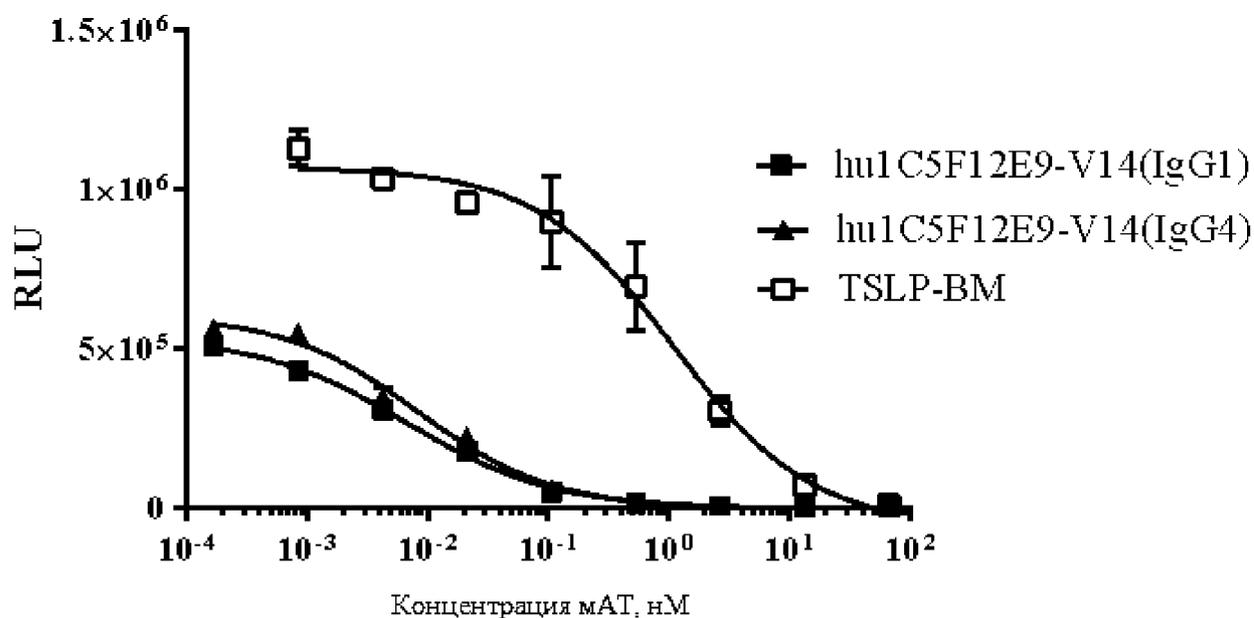
|                       | IC50    |
|-----------------------|---------|
| hu1C5F12E9-V8 (IgG1)  | ~ 1.118 |
| hu1C5F12E9-V8(IgG4)   | ~ 1.101 |
| hu1C5F12E9-V14 (IgG1) | ~ 1.139 |
| hu1C5F12E9-V14(IgG4)  | ~ 1.088 |
| TSLP-BM               | ~ 1.043 |

Фиг. 10

## ФАРМАЦЕВТИЧЕСКАЯ КОМПОЗИЦИЯ, СОДЕРЖАЩАЯ АНТИТЕЛО К TSLP

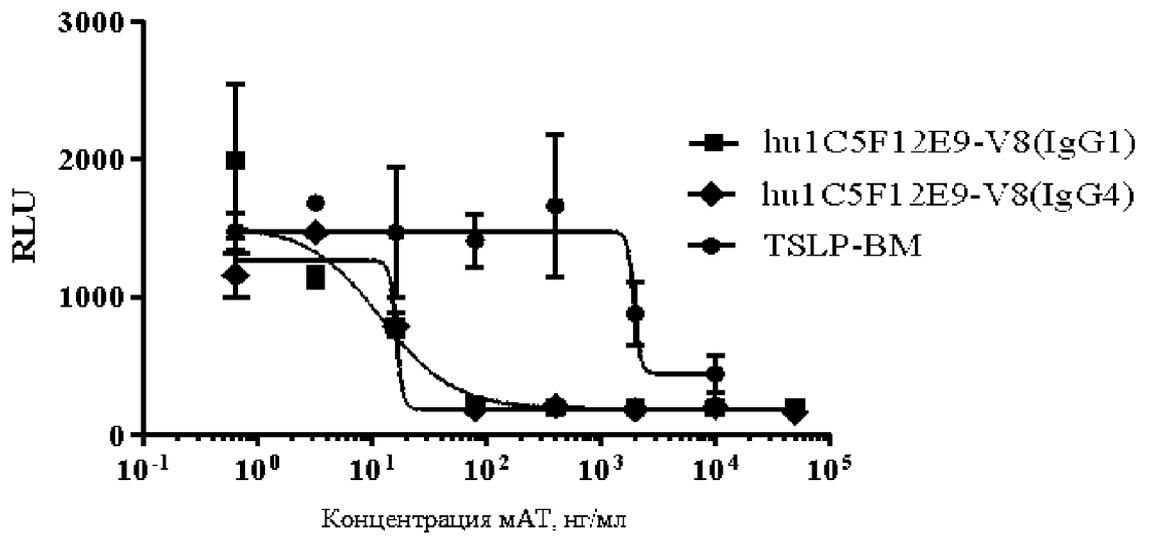


Фиг. 11А



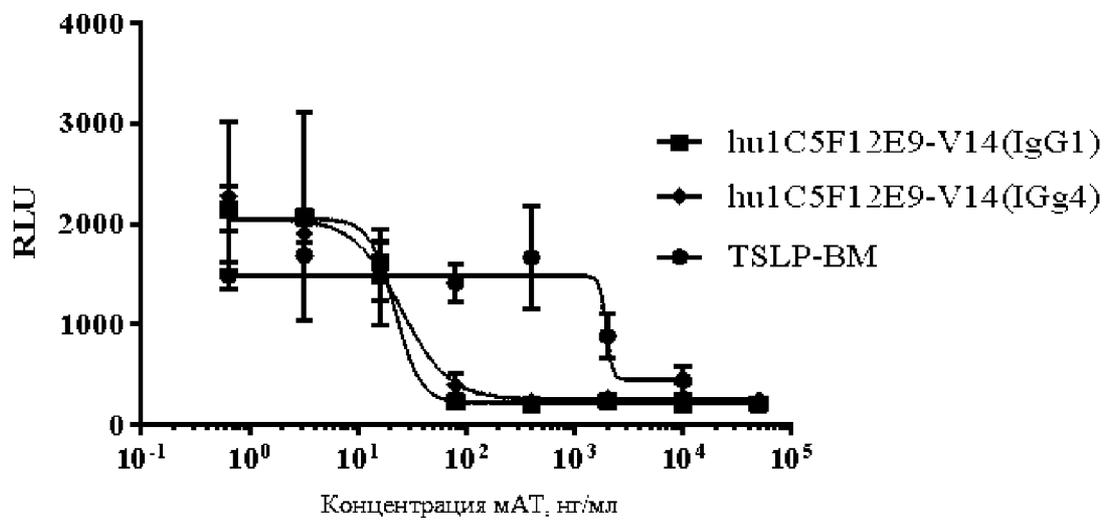
Фиг. 11В

## ФАРМАЦЕВТИЧЕСКАЯ КОМПОЗИЦИЯ, СОДЕРЖАЩАЯ АНТИТЕЛО К TSLP



|      | hu1C5F12E9-V8(IgG1) | hu1C5F12E9-V8(IgG4) | TSLP-BM |
|------|---------------------|---------------------|---------|
| IC50 | 11.85               | ~ 16.24             | ~ 1958  |

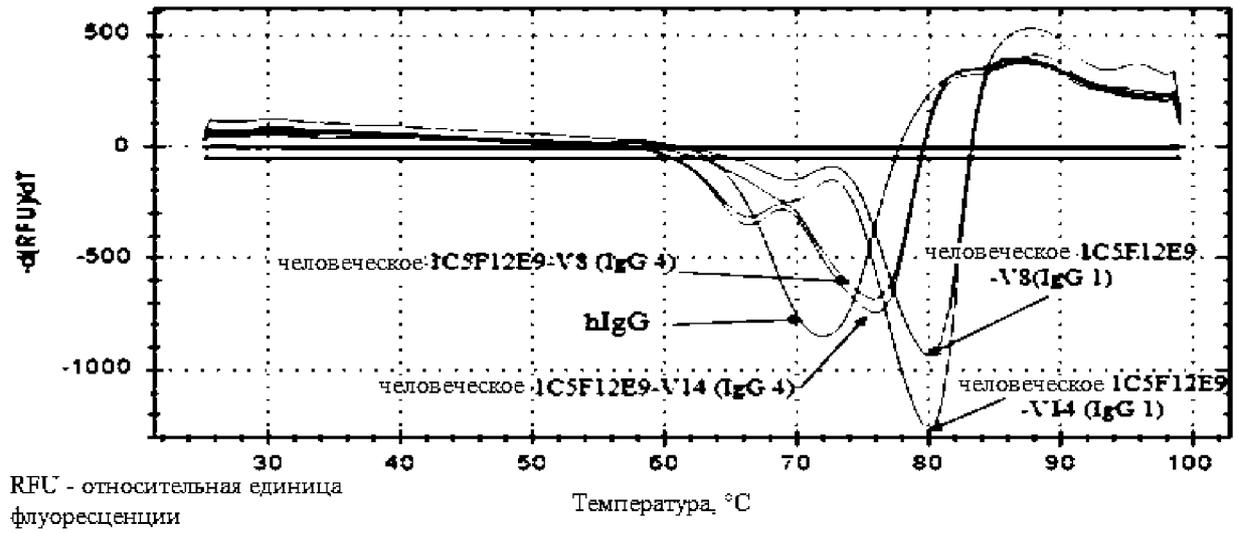
Фиг. 12А



|      | hu1C5F12E9-V14(IgG1) | hu1C5F12E9-V14(IgG4) | TSLP-BM |
|------|----------------------|----------------------|---------|
| IC50 | 22.02                | 25.04                | ~ 1958  |

Фиг. 12В

ФАРМАЦЕВТИЧЕСКАЯ КОМПОЗИЦИЯ, СОДЕРЖАЩАЯ АНТИТЕЛО К TSLP



Фиг. 13