

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(21) **202191454** (13) **A1**

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

(43) Дата публикации заявки
2021.10.12

(51) Int. Cl. *C07K 16/24* (2006.01)
A61K 39/00 (2006.01)
A61K 9/00 (2006.01)
A61K 9/14 (2006.01)

(22) Дата подачи заявки
2019.12.06

(54) **МЕСТНОЕ ЛЕЧЕНИЕ ДИАРЕИ, КОЛИТА ИЛИ ЭНТЕРОКОЛИТА, ВЫЗВАННЫХ ИНГИБИТОРАМИ ИММУННЫХ КОНТРОЛЬНЫХ ТОЧЕК, С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ АНТИТЕЛ И ИХ ФРАГМЕНТОВ**

(31) PCT/EP2018/084057

(32) 2018.12.07

(33) EP

(86) PCT/EP2019/083992

(87) WO 2020/115277 2020.06.11

(71) Заявитель:

ТИЛЛОТТС ФАРМА АГ (CH)

(72) Изобретатель:

Фуррер Эстер Мария, Варум Фелипе,
Браво Роберто, Шплейс Йоханнес,
Неделькович Протич Марияна,
Герстнер Ортруд, Бруно Кристина
(CH)

(74) Представитель:

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

(57) Настоящее изобретение относится к терапевтическому местному применению композиций, содержащих молекулы антител или функциональные фрагменты или производные, специфичные к фактору некроза опухоли альфа (TNF α), для лечения или профилактики побочных эффектов, вызванных ингибитором иммунных контрольных точек (ICP).

A1

202191454

202191454

A1

МЕСТНОЕ ЛЕЧЕНИЕ ДИАРЕИ, КОЛИТА ИЛИ ЭНТЕРОКОЛИТА,
ВЫЗВАННЫХ ИНГИБИТОРАМИ ИММУННЫХ КОНТРОЛЬНЫХ ТОЧЕК, С
ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ АНТИТЕЛ И ИХ ФРАГМЕНТОВ

5

ОБЛАСТЬ ТЕХНИКИ, К КОТОРОЙ ОТНОСИТСЯ ИЗОБРЕТЕНИЕ

Настоящее изобретение относится к терапевтическому применению композиций, содержащих молекулы антител и функциональные фрагменты и производные, специфичные к фактору некроза опухоли альфа (TNF α), при местном лечении по меньшей мере одного побочного эффекта со стороны желудочно-кишечного тракта, вызванного терапией рака у пациента, предпочтительно вызванного одним или несколькими ингибиторами иммунных контрольных точек (ICP). В частности, изобретение относится к терапевтическому применению таких композиций при местном лечении диареи, колита и/или энтероколита, вызванных ингибиторами иммунных контрольных точек (ICP), в частности у пациентов, которые не прекращали принимать ингибиторы ICP в качестве лечения рака; а также к применению таких композиций в качестве, по меньшей мере, частичной профилактики или терапии диареи, колита и/или энтероколита, вызванных ингибиторами ICP, у пациента, проходящего лечение ингибиторами ICP.

10

15

20

ПРЕДПОСЫЛКИ СОЗДАНИЯ ИЗОБРЕТЕНИЯ

В последние годы применение ингибиторов, нацеленных на так называемые иммунные контрольные точки (ICP), и, таким образом, активирующих иммунную систему против раковых клеток, стало многообещающей новой стратегией терапии рака.

25

30

Было показано, что ингибиторы ICP, которые являются иммуностимулирующими агентами, которые «разблокируют» существующий иммунный ответ или которые разблокируют иницирование иммунного ответа, являются очень эффективными при лечении определенных типов рака. Члены ICP, которым в последние годы уделялось наибольшее внимание в поисках ингибиторов ICP, представляют собой белок 1 запрограммированной смерти (PD-1), лиганд белка 1 запрограммированной смерти (PD-L1) и цитотоксический

Т-лимфоцит-ассоциированный белок-4 (CTLA-4). Ингибиторы PD-1, PD-L1 и CTLA-4, например, показали значительный потенциал в улучшении общей выживаемости у пациентов со злокачественной меланомой, злокачественной немелкоклеточной карциномой легкого, плоскоклеточным раком головы и шеи и почечно-клеточной карциномой (Wang и соавт., *Inflamm Bowel Dis*, 24 (8): 1695–1705, июль 2018 г.). Кроме того, у пациентов со злокачественной лимфомой ингибиторы ICР показали многообещающие результаты в клинических испытаниях фазы I и II, а ингибитор PD-1 ниволумаб был одобрен для лечения рецидивной или рефрактерной классической лимфомы Ходжкина Управлением по контролю за продуктами и лекарствами в мае 2016 года (Hude и соавт., *Haematologica*, 2017, январь, 102 (1): 30–42).

CTLA-4, PD-1 и его лиганды являются членами семейства ко-сигнальных молекул В7-CD28, которые играют важную роль на всех стадиях функционирования Т-клеток и других функций клеток. Рецептор PD-1 экспрессируется на поверхности активированных Т-клеток (и В-клеток) и в нормальных условиях связывается со своими лигандами (PD-L1 и PD-L2), которые экспрессируются на поверхности антигенпрезентирующих клеток, таких как, например, дендритные клетки или макрофаги. Это взаимодействие посылает сигнал в Т-клетку и по сути выключает/ингибирует её.

Доступные в настоящее время ингибиторы ICР, нацеленные на пути, ингибирующие активацию, пролиферацию и функцию цитотоксических Т-клеток, включают антитела, специфичные к CTLA-4, PD-1 и PD-L1. Например, моноклональные антитела, нацеленные на PD-1 или PD-L1, могут блокировать это связывание и увеличивать иммунный ответ против раковых клеток. Эти ингибиторы оказались очень многообещающими при лечении ряда типов рака.

В то время как усиление естественной адаптивной иммунной системы пациента ингибиторами ICР приводит к улучшению контроля над опухолью, неспецифическая иммунная активация часто приводит к развитию связанных с иммунитетом побочных эффектов, влияющих на различные системы органов, в частности, на желудочно-кишечный тракт (ЖКТ), таких как колит, энтероколит и/или диарея, вызванные ингибитором ICР. Фактически, результаты клинических испытаний показывают, что наиболее частые тяжелые или опасные для жизни (степени 3 и 4) иммунные побочные эффекты возникают в желудочно-кишечном тракте (Wang и соавт., *Inflamm Bowel Dis*, 24 (8): 1695–1705, июль

2018 г.; Wang DY и соавт. Fatal Toxic Effects Associated With Immune Checkpoint Inhibitors. A Systematic Review and Meta-analysis. JAMA Oncol. Опубликовано в интернете 13 сентября 2018 г. doi:10.1001/jamaoncol.2018.3923).

Например, связанные с иммунной системой побочные эффекты, затрагивающие желудочно-кишечный тракт, такие как колит, вызванный ингибитором ICP, были зарегистрированы примерно у 21–44% пациентов, получавших ингибиторы CTLA-4, и немного реже у пациентов, получавших ингибиторы PD-1/PD-L1 (Wang и соавт., Inflamm Bowel Dis, 24 (8): 1695–1705, июль 2018 г.).

Колит представляет собой заболевание, характеризующееся воспалением толстого кишечника/толстой кишки. Энтерит определяется как заболевание, характеризующееся воспалением тонкой кишки. Энтероколит представляет собой заболевание, характеризующееся воспалением как тонкой кишки, так и толстой кишки /толстого кишечника, то есть комбинацию энтерита и колита.

Симптомы, характеризующие колит, вызванный ингибитором ICP, включают диарею, боль в животе, тошноту, спазмы, кровь или слизь в стуле или изменения в поведении кишечника, лихорадку, вздутие живота, кишечную непроходимость и запор (Brahmer и соавт., Management of Immune-Related Adverse Events in Patients Treated With Immune Checkpoint Inhibitor Therapy: American Society of Clinical Oncology (ASCO) Практическое руководство, J Clin Oncol. июнь 2018 г. 10; 36(17): 1714-1768). Симптомы, характеризующие энтероколит, вызванный ингибитором ICP, включают перечисленные выше симптомы колита, вызванного ингибитором ICP.

Как описано в *Практическом руководстве ASCO* для Management of Immune-Related Adverse Events in Patients Treated with Immune Checkpoint Inhibitor Therapy, клиническую тяжесть колита, вызванного ингибитором ICP, можно разделить на четыре степени на основе СТСАЕ Национального института рака для диареи, версия 4. 1-я степень характеризуется диареей со стулом <4 раз в день по сравнению с исходным уровнем; и небольшим увеличением экскреции стомы по сравнению с исходным уровнем. 2-я степень характеризуется диареей с превышением исходного уровня стула на 4-6 раз в день; и умеренным увеличением экскреции стомы по сравнению с исходным уровнем. 3-я степень характеризуется диареей с превышением исходного уровня стула на ≥ 7 раз в день; недержанием мочи; резко увеличенным объемом стула; и резким

увеличением экскреции стомы по сравнению с исходным уровнем; показана госпитализация. 4-я степень характеризуется диареей с превышением исходного уровня стула > 7 раз в день; в целом те же симптомы, что и степень 3, но с опасными для жизни последствиями, такими как перфорация, кишечная непроходимость и/или лихорадка; и госпитализация обычно необходима (Brahmer и соавт., Management of Immune-Related Adverse Events in Patients Treated With Immune Checkpoint Inhibitor Therapy: American Society of Clinical Oncology Практическое руководство, J Clin Oncol. июнь 2018 г. 10;36(17):1714-1768). Эквивалентная градация может применяться к пациентам, страдающим колитом или энтероколитом, вызванным ингибитором ICP.

Лечение колита и энтероколита, вызванного ингибитором ICP, обычно основывается на тяжести симптомов, включая иммуносупрессию с помощью системно вводимых кортикостероидов для умеренных и тяжелых симптомов, а в стероидорезистентных случаях - системное применение биопрепаратов, таких как инфликсимаб.

Практическое руководство ASCO рекомендует при токсичности 2-ой степени, связанной с колитом, вызванным ингибитором ICP, введение кортикостероидов, если диарея не носит временного характера, начиная с начальной дозы преднизона 1 мг/кг/день или его эквивалента. Во время терапии кортикостероидами лечение ингибиторами ICP следует прекратить. Когда симптомы улучшатся до 1-ой степени или лучше, следует снизить количество кортикостероидов как минимум на 4–6 недель перед возобновлением лечения ингибиторами ICP.

При токсичности 3-ей степени в руководстве рекомендуется назначение кортикостероидов, начиная с начальной дозы преднизона 1-2 мг/кг/день или его эквивалента. Следует рассмотреть возможность полного прекращения приема препаратов CTLA-4, в то время как препараты PD-1 и PD-L1 можно возобновить, если состояние пациента улучшится до 1-ой степени или лучше. Если симптомы сохраняются более 3-5 дней или повторяются после улучшения, следует рассмотреть возможность введения внутривенных кортикостероидов или некортикостероидных иммунодепрессантов (например, инфликсимаба).

При токсичности 4-ой степени в руководстве рекомендуется внутривенное введение кортикостероидов в дозе от 1 до 2 мг/кг/день (метил)преднизолон или его эквивалента до тех пор, пока симптомы не улучшатся до 1-ой степени, а

затем начать снижение дозы кортикостероидов в течение 4-6 недель. Прием ингибиторов ИСР следует полностью прекратить. Если симптомы не поддаются лечению в течение 2-3 дней, следует рассмотреть возможность введения инфликсимаба в дозе 5-10 мг/кг (например, инфликсимаба 5 мг/кг каждые 2
5 недели). Руководство по клиническому лечению токсичности ингибиторов ИСР также представлено в Hryniewicz и соавт. J Emerg Med. Октябрь 2018 г.; 55 (4): 489-502.

Таким образом, стойкий колит 2-ой степени, вызванный ингибитором ИСР, и почти любой колит 3/4 степени, вызванный ингибитором ИСР, обычно требуют
10 лечения системными кортикостероидами. Применение профилактических стероидов (например, перорального будесонида) не продемонстрировало эффективности при лечении развития диареи или колита, вызванного ингибиторами ИСР. Пациентам, не поддающимся лечению системными кортикостероидами, рекомендуется системное лечение некортикостероидами,
15 такими как анти-TNF специфическое антитело - инфликсимаб. В соответствии с практическими рекомендациями ASCO, энтерит и, следовательно, энтероколит в целом можно лечить так же, как колит, включая кортикостероиды и/или инфликсимаб.

Кортикостероиды имеют несколько побочных эффектов, особенно при
20 длительном применении и в высоких дозах. В частности, пациенты, принимающие кортикостероиды, часто имеют повышенную восприимчивость к инфекциям. Более того, использование системных кортикостероидов, помимо более высокого уровня инфицирования, приводит к другим потенциальным побочным эффектам, включая такие как: остеопороз; переломы; остеонекроз;
25 повышенный сердечно-сосудистый риск; гастрит, язвенная болезнь; обострение диабета; нервозность или беспокойство; высокое кровяное давление; бессонница; задержка воды и отек; катаракта или глаукома; мышечная слабость; резкие перепады настроения; образование синяков при легком ушибе; и увеличение веса. Поэтому следует избегать длительного системного лечения
30 кортикостероидами.

Кроме того, системное лечение кортикостероидами в более высоких дозах (например, 1-2 мг/кг/день преднизона или его эквивалента) требует прерывания (или окончательного прекращения) лечения ингибиторами ИСР. Такое

прерывание ставит под угрозу противораковый эффект этих ингибиторов ИСР. Поэтому было бы предпочтительнее избегать таких перерывов.

Нестероидные агенты, обладающие иммунодепрессивным действием, например, анти-TNF α антитела не обладают многими побочными эффектами системного лечения кортикостероидами, хотя анти-TNF α антитела, такие как инфликсимаб, обычно также вводятся системно. Кроме того, сообщалось, что частота инфицирования численно выше среди пациентов, страдающих колитом, вызванным ингибитором ИСР, которые получали системные кортикостероиды в течение более длительного времени, по сравнению с введением системных анти-TNF α антител. Следовательно, ранняя нестероидная иммуносупрессивная терапия может обеспечить более благоприятный общий результат (Wang и соавт. *J Immunother Cancer* (2018) 6:37).

В настоящее время стандартная терапия для лечения тяжелого колита или энтероколита, вызванного ингибитором ИСР, с использованием анти-TNF α антител, включает регулярное системное введение анти-TNF α антител путем внутривенной инфузии. Однако также системное введение анти-TNF α антител больным раком требует прерывания любого лечения ингибитором ИСР, тем самым ставя под угрозу успешное лечение рака с помощью ингибитора ИСР.

Более того, внутривенное введение может вызвать осложнения, включая острую инфузионную реакцию, гиперчувствительность и анафилактический шок. Кроме того, системное применение анти-TNF α антител сопряжено со множеством рисков, связанных с системным ингибированием функции иммунной защиты TNF α у пациента, включая, например, инфекционные осложнения. Кроме того, иммуногенность к системно применяемым антителам может привести к их нейтрализации, что приведет к вторичной потере ответа. Наконец, сообщалось о меланоме и карциноме из клеток Меркеля у пациентов, получавших терапию блокаторами TNF, включая инфликсимаб.

Таким образом, в настоящее время для лечения побочных эффектов со стороны желудочно-кишечного тракта, вызванных ингибитором ИСР, таких как колит, энтероколит и/или диарея, вызванные ингибитором ИСР, с умеренными и тяжелыми симптомами требуется прерывание лечения ингибитором ИСР и системное применение, обычно стероидного, иммунодепрессанта. Это отрицательно сказывается на эффективности лечения рака и приводит к

нежелательным побочным эффектам на системном уровне, а в случае меланомы - к рецидиву основного заболевания.

5 Существует потребность в альтернативном лечении побочных эффектов со стороны желудочно-кишечного тракта, вызванных ингибитором ICP, таких как диарея, колит или энтероколит, вызванные ингибитором ICP, позволяющая целенаправленно воздействовать на воспаленные ткани в желудочно-кишечном тракте, в частности в подвздошной кишке и толстом кишечнике, без необходимости прерывания лечения ингибиторами ICP. Лечение должно, в частности, обеспечивать эффективное нацеливание на ткань, пораженную 10 побочным действием ингибитора в желудочно-кишечном тракте, без необходимости системного применения. Кроме того, также существует необходимость в профилактическом лечении для предотвращения или отсрочки появления побочных эффектов, влияющих на желудочно-кишечный тракт, вызванных лечением ингибиторами ICP; в частности, для раннего лечения с 15 целью предотвращения серьезных осложнений, таких как кишечная непроходимость и перфорация, а также необходимости экстренной эндоскопии, госпитализации и хирургического вмешательства.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

20 Авторы настоящего изобретения неожиданно обнаружили, что путем местного лечения иммунных побочных эффектов, вызванных ингибиторами ICP, в желудочно-кишечном тракте, тем самым устраняя необходимость в системном иммуносупрессивном лечении, это устраняет необходимость прекращения 25 лечения ингибиторами ICP путем разрешения сопутствующего местного лечения в желудочно-кишечном тракте иммуносупрессивными TNF α -специфическими антителами или их функциональными фрагментами и системного лечения ингибиторами ICP, что позволяет избежать провала успешного лечения рака с помощью ингибиторов ICP. Несмотря на то, что ингибиторы ICP для лечения рака известны уже более 15 лет, никогда не предполагалось, что TNF α - 30 специфические антитела можно местно вводить для лечения или предотвращения иммунных побочных эффектов терапии ингибиторами ICP.

Настоящее изобретение обеспечивает композицию для местного лечения диареи, колита или энтероколита, вызванных ингибитором ICP в подвздошной кишке и/или толстом кишечнике. Кроме того, настоящее изобретение

обеспечивает композицию для местного лечения подвздошной кишки и/или толстого кишечника в качестве профилактической терапии диареи, колита или энтероколита, вызванных ингибитором ИСР. В частности, настоящее изобретение обеспечивает композицию для использования на ранних этапах терапии диареи, вызванной ингибитором ИСР, для предотвращения более серьезных побочных эффектов, влияющих на желудочно-кишечный тракт, таких как колит или энтероколит.

Таким образом, настоящее изобретение относится к объекту, определенному в следующих пунктах с 1 по 69:

10 [1] Фармацевтическая композиция, содержащая активный агент, выбранный из группы, состоящей из антител, специфичных к фактору некроза опухоли альфа (TNF α), и их функциональных фрагментов и производных, для применения в лечении или профилактике по меньшей мере одного побочного эффекта со стороны желудочно-кишечного тракта, вызванного терапией рака у

15 пациента, предпочтительно вызванного одним или несколькими ингибиторами иммунных контрольных точек (ИСТ), при этом указанное лечение или профилактика включает местное введение указанной композиции в пораженную часть желудочно-кишечного тракта указанного пациента, например, в подвздошную кишку и/или толстый кишечник указанного пациента;

20 или

Фармацевтическая композиция, содержащая активный агент, выбранный из группы, состоящей из антител, специфичных к фактору некроза опухоли альфа (TNF α), и их функциональных фрагментов и производных, для применения в лечении или профилактике по меньшей мере одного побочного явления со

25 стороны желудочно-кишечного тракта, вызванного терапией рака у пациента, предпочтительно вызванного одним или несколькими ингибиторами иммунных контрольных точек (ИСТ), где указанное лечение или профилактика включает пероральное введение указанной композиции указанному пациенту.

[2] Фармацевтическая композиция, содержащая активный агент,

30 выбранный из группы, состоящей из антител, специфичных к фактору некроза опухоли альфа (TNF α), и их функциональных фрагментов и производных, для применения для предотвращения прогрессирования или ухудшения по меньшей мере одного побочного эффекта со стороны желудочно-кишечного тракта, вызванного терапией рака у пациента, предпочтительно вызванного одним или

несколькими ингибиторами иммунных контрольных точек (ICP), где указанная профилактика включает местное введение указанной композиции в пораженную часть желудочно-кишечного тракта указанного пациента, например, в подвздошную кишку и/или толстый кишечник указанного пациента; или

5 Фармацевтическая композиция, содержащая активный агент, выбранный из группы, состоящей из антител, специфичных к фактору некроза опухоли альфа (TNF α), и их функциональных фрагментов и производных, для применения для предотвращения прогрессирования или ухудшения по меньшей мере одного
10 побочного эффекта со стороны желудочно-кишечного тракта, вызванного лечением рака у пациента, предпочтительно вызванного одним или несколькими ингибиторами иммунных контрольных точек (ICP), где указанная профилактика включает пероральное введение указанной композиции указанному пациенту.

[3] Композиция для применения по пункту 1 или 2, которая позволяет проводить непрерывное лечение, предпочтительно системное, одним или
15 несколькими ингибиторами ICP.

[4] Композиция для применения по любому из п.п. 1 - 3, где пациент проходит лечение, предпочтительно системное лечение, одним или несколькими ингибиторами ICP.

[5] Композиция для применения по пункту 4, где лечение одним или
20 несколькими ингибиторами ICP прерывается менее чем на четыре недели, предпочтительно менее чем на две недели, более предпочтительно менее чем на одну неделю, даже более предпочтительно менее чем на пять дней, четыре дня, три дня, два дня или один день, и наиболее предпочтительно, когда лечение не прерывается.

25 [6] Композиция для применения по любому из предыдущих пунктов, где пациент страдает колитом, вызванным ингибитором ICP, или имеет риск его развития.

[7] Композиция для применения по пункту 6, где указанный колит, вызванный ингибитором ICP, характеризуется токсичностью 1-ой степени, и,
30 необязательно, указанное лечение или профилактика предотвращает прогрессирование до более высокой степени токсичности.

[8] Композиция для применения по пункту 6, где указанный колит, вызванный ингибитором ICP, характеризуется токсичностью 2-ой степени, и,

необязательно, указанное лечение или профилактика предотвращает прогрессирование до более высокой степени токсичности.

5 [9] Композиция для применения по пункту 6, где указанный колит, вызванный ингибитором ИСР, характеризуется токсичностью 3-й степени, и, необязательно, указанное лечение или профилактика предотвращает прогрессирование до более высокой степени токсичности.

[10] Композиция для применения по пункту 6, где указанный колит, вызванный ингибитором ИСР, характеризуется токсичностью 4-ой степени.

10 [11] Композиция для применения по любому из п.п. 7 - 10, где указанное лечение или профилактика предотвращает прекращение лечения одним или несколькими ингибиторами ИСР.

[12] Композиция для применения по любому из предыдущих пунктов, где пациент страдает энтероколитом, вызванным ингибитором ИСР, или имеет риск его развития.

15 [13] Композиция для применения по пункту 12, где указанный энтероколит, вызванный ингибитором ИСР, характеризуется токсичностью 1-ой степени, и, необязательно, указанное лечение или профилактика предотвращает прогрессирование до более высокой степени токсичности.

20 [14] Композиция для применения по пункту 12, где указанный энтероколит, вызванный ингибитором ИСР, характеризуется токсичностью 2-ой степени, и, необязательно, указанное лечение или профилактика предотвращает прогрессирование до более высокой степени токсичности.

25 [15] Композиция для применения по пункту 12, где указанный энтероколит, вызванный ингибитором ИСР, характеризуется токсичностью 3-й степени, и, необязательно, указанное лечение или профилактика предотвращает прогрессирование до более высокой степени токсичности.

[16] Композиция для применения по пункту 12, где указанный энтероколит, вызванный ингибитором ИСР, характеризуется токсичностью 4-ой степени.

30 [17] Композиция для применения по любому из п.п. 13 з 16, где указанное лечение или профилактика предотвращает прекращение лечения одним или несколькими ингибиторами ИСР.

[18] Композиция для применения по любому из предыдущих пунктов, где пациент страдает от диареи, вызванной ингибитором ИСР, или имеет риск её развития.

5 [19] Композиция для применения по пункту 18, где указанная диарея, вызванная ингибитором ИСР, характеризуется токсичностью 1-ой степени, и, необязательно, указанное лечение или профилактика предотвращает прогрессирующее до более высокой степени токсичности.

10 [20] Композиция для применения по пункту 18, где указанная диарея, вызванная ингибитором ИСР, характеризуется токсичностью 2-ой степени, и, необязательно, указанное лечение или профилактика предотвращает прогрессирующее до более высокой степени токсичности.

15 [21] Композиция для применения по пункту 18, где указанная диарея, вызванная ингибитором ИСР, характеризуется токсичностью 3-ей степени, и, необязательно, указанное лечение или профилактика предотвращает прогрессирующее до более высокой степени токсичности.

[22] Композиция для применения по пункту 18, где указанная диарея, вызванная ингибитором ИСР, характеризуется токсичностью 4-ой степени.

20 [23] Композиция для применения по любому из п.п. 19 - 22, где указанное лечение или профилактика предотвращает прекращение лечения одним или несколькими ингибиторами ИСР.

25 [24] Композиция для применения по любому из предыдущих пунктов, где композиция предназначена для применения в качестве лечения первой линии у пациента с диареей, колитом или энтероколитом, вызванными ингибитором ИСР; и/или где указанный пациент не лечится кортикостероидами; и/или где указанный пациент не лечился кортикостероидами.

[25] Композиция для применения по любому из предыдущих пунктов, где композиция предназначена для применения в качестве лечения второй линии у пациента с диареей, колитом или энтероколитом, вызванными резистентным к стероидам ингибитором ИСР.

30 [26] Фармацевтическая композиция, содержащая активный агент, выбранный из группы, состоящей из антител, специфичных к TNF α , и их функциональных фрагментов и производных, для местного лечения подвздошной кишки и/или толстого кишечника пациента в качестве

профилактической терапии диареи, колита или энтероколита, вызванных ингибитором ICP.

[27] Композиция для применения по пункту 26, где местное лечение предотвращает развитие токсичности 3-ей степени, предпочтительно токсичности 2-ой степени, более предпочтительно токсичности 1-ой степени, наиболее предпочтительно любых симптомов, связанных с побочными эффектами, у пациента, вызванными ингибитором ICP, предпочтительно диареей, колитом или энтероколитом, вызванных ингибитором ICP в подвздошной кишке или толстом кишечнике пациента.

[28] Композиция для применения по пункту 27, дающая возможность одновременного лечения, предпочтительно системного лечения, одним или несколькими ингибиторами ICP.

[29] Композиция для применения по пунктам 26 - 28, пациент одновременно проходит системное лечение одним или несколькими ингибиторами ICP.

[30] Композиция для применения по пунктам 26 - 29, где применение композиции предотвращает или минимизирует и/или замедляет симптомы, связанные с диареей, колитом или энтероколитом, вызванными ингибитором ICP.

[31] Композиция для применения по любому из предыдущих пунктов, где ингибитор ICP способен воздействовать на иммунную контрольную точку, выбранную из группы, состоящей из CTLA-4, PD-1, PD-L1, PDL2, B7-H3, B7-H4, BTLA, HVEM, TIM3, GAL9, LAG3, CSF-1R, VISTA, KIR, 2B4, CD160, CGEN-15049, CHK1, CHK2, A2aR, ADAR1, CD47, ICOS, TIGIT и семейства лигандов B-7.

[32] Композиция для применения по любому из предыдущих пунктов, в которой один или несколько ингибиторов ICP выбраны из группы, состоящей из антител, специфичных к цитотоксическому Т-лимфоцит-ассоциированному белку-4 (CTLA-4), антител, специфичных к белку-1 запрограммированной гибели клеток (PD-1), и антител, специфичных к лиганду белка 1 запрограммированной смерти 1 (PD-L1).

[33] Композиция для применения по пункту 32, где антитела, специфичные к PD-1, выбраны из группы, состоящей из пембролизумаба, ниволумаба, цемиплимаба и тислелизумаба; антитела, специфичные к PD-L1,

выбраны из группы, состоящей из атезолизумаба, авелумаба и дурвалумаба, а антитела, специфичные к CTLA-4, выбраны из группы, состоящей из ипилимумаба и тремелиумаба.

5 [34] Композиция для применения по пункту 32 или 33, где один или несколько ингибиторов ICP представляют собой комбинацию антител, специфичных к PD-1 и/или PD-L1, и антител, специфичных к CTLA-4, предпочтительно комбинацию антител, специфичных к PD-1 или PD-L1, и антител, специфичных к CTLA-4.

10 [35] Композиция для применения по любому из предыдущих пунктов, где один или несколько ингибиторов ICP модулируют иммунный ответ у пациента.

[36] Композиция для применения по любому из предыдущих пунктов, где один или несколько ингибиторов ICP ингибируют рост опухолевых клеток у пациента.

15 [37] Композиция для применения по любому из предыдущих пунктов, где пациент страдает инфекционным заболеванием.

[38] Композиция для применения по любому из предыдущих пунктов, где пациент является больным раком.

20 [39] Композиция для применения по пункту 38, где рак выбран из группы, состоящей из таких как: меланома; лимфома, такая как классическая лимфома Ходжкина; глиома; уротелиальная карцинома; карцинома из клеток Меркеля; рак почек; плоскоклеточный рак головы и шеи, рак простаты; рак молочной железы; рак толстой кишки; и рак легких.

25 [40] Композиция для применения по пункту 39, где рак выбран из группы, состоящей из таких как: рак костей, рак поджелудочной железы, рак кожи, рак головы или шеи, кожная или внутриглазная злокачественная меланома, рак матки, рак яичников, рак прямой кишки, рак анальной области, рак желудка, рак яичек, рак матки, карцинома маточных труб, карцинома эндометрия, карцинома шейки матки, карцинома влагалища, карцинома вульвы,
30 болезнь Ходжкина, неходжкинская лимфома, рак пищевода, рак тонкой кишки, рак эндокринной системы, рак щитовидной железы, рак парашитовидной железы, рак надпочечников, саркома мягких тканей, рак уретры, рак полового члена, хронический или острый лейкоз, острый миелоидный лейкоз, хронический миелоидный лейкоз, острый лимфобластный лейкоз, хронический

лимфолейкоз, солидные опухоли у детей, лимфоцитарная лимфома, рак мочевого пузыря, рак почки или мочеточника, карцинома почечной лоханки, новообразование центральной нервной системы (ЦНС), первичная лимфома ЦНС, опухолевый ангиогенез, опухоль оси позвоночника, глиома ствола головного мозга, аденома гипофиза, саркома Капоши, эпидермоидный рак, плоскоклеточный рак, Т-клеточная лимфома, раковые образования, вызванные окружающей средой, включая вызванные асбестом, и комбинации указанных видов рака.

5 [41] Композиция для применения по любому из предыдущих пунктов, где композиция обеспечивает терапевтически эффективную дозу TNF α специфического антитела или его функционального фрагмента или производного в просвете подвздошной кишки или толстого кишечника пациента для предотвращения, минимизации, отсрочки или облегчения симптомов, связанных с диареей, колитом или энтероколитом, вызванными ингибитором 15 ICP.

[42] Композиция для применения по любому из предыдущих пунктов, где функциональный фрагмент или производное антитела, специфичного к TNF α , представляет собой фрагмент Fab, фрагмент F(ab')₂, фрагмент Fab', scFv, dsFv, диатело, тройное тело, тетратело, слитый белок Fc, верблюжье антитело, 20 VHH, Vorabody, VNAR или миниантитело.

[43] Композиция для применения по любому из предыдущих пунктов, где антитела, специфичные к TNF α , и их функциональные фрагменты и производные выбраны из группы, состоящей из инфликсимаба, адалимумаба, этанерцепта, цертолизумаба пегола, голимумаба и их функциональных 25 фрагментов и производных; из анти-TNF α антител и их функциональных фрагментов и производных с переменными доменами легкой цепи и/или переменными доменами тяжелой цепи, содержащими определяющие комплементарность области (CDR) с аминокислотными последовательностями, как описано в п. 2 WO формулы изобретения 2017/158092, в п. 2 формулы изобретения WO 2017/158097, в пункте 2 формулы изобретения WO 2017/158079 30 и/или в пункте 2 формулы изобретения WO 2017/158084 в том виде, в котором они были первоначально поданы; из анти-TNF α антител и их функциональных фрагментов и производных, содержащих аминокислотную последовательность переменного домена тяжелой цепи и/или аминокислотную последовательность

вариабельного домена легкой цепи по п. 4 формулы изобретения WO 2017/158079, п.п. 5 и 6 формулы изобретения WO 2017/158097, п.п. 5 и 6 формулы изобретения WO 2017/158092 и п. 4 формулы изобретения WO 2017/158084, как они были первоначально поданы; и их комбинаций.

5 [44] Композиция для применения по пункту 43, где анти-TNF α антитело представляет собой инфликсимаб, адалимумаб, этанерцепт, цертолизумаб пегол или голимумаб

[45] Композиция для применения по пункту 43, где анти-TNF α антитело представляет собой инфликсимаб.

10 [46] Композиция для применения по пункту 43, где анти-TNF α антитело представляет собой адалимумаб.

[47] Композиция для применения по любому из п.п. 1 - 43, где функциональный фрагмент или производное представляет собой функциональный фрагмент или производное инфликсимаба, адалимумаба, этанерцепта, цертолизумаба пегола или голимумаба.

[48] Композиция для применения по любому из предыдущих пунктов, где аминокислотная последовательность антитела, специфичного к TNF α , или его функционального фрагмента или производного, включает

(i) аминокислоты 233P, 234V, 235A и делецию в положении аминокислоты 236; и аминокислоту 434A или аминокислоты 252Y, 254T и 256E; и необязательно аминокислоты 239D, 330L и 332E или аминокислоты 326A, 332E и 333A; и/или

(ii) аминокислоты 380A и 434A и необязательно аминокислоту 307T; и/или

25 (iii) аминокислоту 434W, и необязательно аминокислоту 428E и/или аминокислоту 311R, где нумерация аминокислот относится к нумерации ЕС.

[49] Композиция для применения по любому из п.п. 1 - 43 и 48, где активный агент представляет собой антитело, содержащее домен VL, содержащий область CDR1, имеющую аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 3, область CDR2, имеющую аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 4, и область CDR3, имеющую аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 5; и домен VH, содержащий область CDR1, имеющую аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 6, область CDR2, имеющую аминокислотную

последовательность, показанную в SEQ ID NO: 7, и область CDR3, имеющую аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 8.

[50] Композиция для применения по любому из п.п. 1 - 43 и 48, где активный агент представляет собой антитело, содержащее домен V_L , имеющий аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 10, и домен V_H , имеющий аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 9.

[51] Композиция для применения по любому из п.п. 1 - 43, 49 и 50, где активный агент представляет собой антитело, содержащее Fc-область, содержащую аминокислоты с 236 по 451 аминокислотной последовательности, как показано в SEQ ID NO: 11.

[52] Композиция для применения по любому из п.п. 1 - 43, где активный агент представляет собой антитело, содержащее легкую цепь, имеющую аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 1, и тяжелую цепь, имеющую аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 11, 14, 15 или 16.

[53] Композиция для применения по любому из предыдущих пунктов, где указанное лечение включает пероральное введение композиции.

[54] Композиция для применения по пункту 53, где композиция представляет собой твердую лекарственную форму в форме пилюли, гранулы, микрочастицы, наночастицы, мини-таблетки, сферы, капсулы, таблетки или системы доставки лекарственного средства из множества частиц, покрытой покрытием с отсроченным высвобождением, которое предотвращает высвобождение активного агента до попадания в подвздошную кишку, терминальный отдел подвздошной кишки или тонко-толстокишечную область желудочно-кишечного тракта (ЖКТ).

[55] Композиция для применения по пункту 54, где покрытие с отсроченным высвобождением включает по меньшей мере один компонент, выбранный из материалов покрытия, которые распадаются в зависимости от pH, материалов покрытия, которые распадаются в зависимости от времени, материалов покрытия, которые распадаются благодаря ферментативным триггерным агентам в кишечной среде, и их комбинаций.

[56] Композиция для применения по пункту 53 или 54, где – материалы покрытия, которые разлагаются в зависимости от pH, выбирают из группы, состоящей из таких как: поливинилацетатфталат;

тримеллитат ацетата целлюлозы; фталат гидроксипропилметилцеллюлозы НР-50, НР-55 или НР-55S; фталат ацетата целлюлозы; сукцинат ацетата гидроксипропилметилцеллюлозы (HPMCAS); поли(метакриловая кислота, этилакрилат) 1:1 (Eudragit® L100-55, Eudragit® L30D-55); поли(метакриловая кислота, метилметакрилат) 1:1 (Eudragit® L-100, Eudragit® L12.5); поли(метакриловая кислота, метилметакрилат) 1:2 (Eudragit® S-100, Eudragit® S12,5, Eudragit® FS30D) и их комбинации;

– материалы покрытия, которые распадаются в зависимости от времени, выбирают из таких как: поли(этилакрилат, метилметакрилат) 2:1 (например, Eudragit® NM 30D, Eudragit® NE 30D); поли(этилакрилат, метилметакрилат, метакриловая кислота 7: 3: 1 (например, Eudragit® RS 30D); этилцеллюлоза (например, Surelease® или Aquacoat ECD); поли(этилакрилат, метилметакрилат, триметиламмониоэтилметакрилат хлорид) 1: 2: 0,2 (например, Eudragit® RL 30D), поливинилацетат (например, Kollicoat® SR 30D) и их комбинации; и

– материалы покрытия, которые распадаются благодаря ферментативным триггерным агентам в кишечной среде, выбирают из группы, состоящей из таких как: гемицеллюлозы, хондроитинсульфат; циклодекстрин; пектин; гуаровая камедь; хитозан; инулин; лактулоза; раффиноза; стахиоза; альгинат; декстран; ксантановая камедь; камедь рожкового дерева; арабиногалактан; амилоза; пуллулан; каррагинан; склероглюкан; хитин; курдулан; леван; амилопектин; крахмал; стойкий крахмал; азосоединения, разлагаемые бактериями, расщепляющими азосвязи; и их комбинации.

[57] Композиция по любому из п.п. 54 - 56, где покрытие с отсроченным высвобождением включает комбинацию по меньшей мере одного материала покрытия, который распадается в зависимости от pH, и по меньшей мере одного материала покрытия, который распадается благодаря ферментативным триггерным агентам в кишечной среде.

[58] Композиция по любому из п.п. 54 - 56, где покрытие с отсроченным высвобождением включает по меньшей мере один компонент, выбранный из группы, состоящей из таких как: гемицеллюлоза, поливинилацетатфталат, тримеллитат ацетата целлюлозы, фталат гидроксипропилметилцеллюлозы НР-50, НР-55 или НР-55S, фталат ацетата целлюлозы, сукцинат ацетата гидроксипропилметилцеллюлозы. (HPMCAS), поли(метакриловая кислота,

этилакрилат) 1: 1, поли(метакриловая кислота, метилметакрилат) 1: 1, поли(метакриловая кислота, метилметакрилат) 1: 2, хондроитинсульфат, пектин, гуаровая камедь, хитозан, инулин, лактулоза, раффиноза, стахиоза, альгинат, декстран, ксантановая камедь, камедь плодов рожкового дерева, арабиногалактан, амилоза, циклодекстрин, пуллулан, каррагинан, склероглюкан, хитин, курдулан, леван, амилопектин, крахмал, стойкий крахмал, азосоединения, разлагаемые бактериями, расщепляющими азосвязи; и их комбинации.

[59] Композиция по любому из п.п. 53 - 58, где при пероральном введении композиции высвобождение антитела или его функционального фрагмента начинается в подвздошной кишке, терминальном отделе подвздошной кишки, тонко-толстокишечной области, восходящей ободочной кишке, поперечной ободочной кишке или нисходящей ободочной кишке.

[60] Композиция по любому из п.п. 54 - 59, где покрытие с отсроченным высвобождением включает комбинацию по меньшей мере одного чувствительного к pH (энтеросолюбильного) полимера, предпочтительно поли(метакриловой кислоты, метилметакрилата) 1: 2 (например, Eudragit® S или L), и по меньшей мере одного полисахарида, выбранного из таких как: гемицеллюлоза, хондроитина сульфат, циклодекстрин, хитозан, декстран, арабиногалактан, амилоза, пуллулан, каррагинан, склероглюкан, хитин, курдулан, леван, амилопектин, крахмал, стойкий крахмал, азосоединения, разлагаемые бактериями, расщепляющими азосвязи; и их комбинации, предпочтительно стойкий крахмал.

[61] Композиция по любому из п.п. 54 - 59, где покрытие с отсроченным высвобождением включает в качестве единственного полимера(ов) один или несколько pH-чувствительных полимеров, например Eudragit® S и/или L; или где покрытие с отсроченным высвобождением по существу состоит из, по меньшей мере, одного pH-чувствительного полимера, например, Eudragit® S и/или L.

[62] Композиция для применения по любому из п.п. 1 - 52, где указанное лечение включает ректальное введение композиции и/или где композиция представляет собой клизму, гель, пену или суппозиторий.

[63] Композиция для применения по любому из предыдущих пунктов, содержащая по меньшей мере одну добавку, выбранную из гидрофильных полимеров, наполнителей, гидрофильных связующих, разрыхлителей, агентов,

препятствующих слипанию, поверхностно-активных веществ, стабилизаторов, усилителей устойчивости к протеазам, пластификаторов, коалесцирующих агентов, смазок, буферных агентов и/или подкислителей.

5 [64] Композиция для применения по любому из п.п., представленных выше, которая представляет собой электронную лекарственную капсулу, сконструированную для доставки активного агента непосредственно в подвздошную и/или толстую кишку; или которая обеспечивается генетически модифицированными бактериями, экспрессирующими TNF-альфа-связывающие белки.

10 [65] Композиция для применения по любому из п.п., представленных выше, где местное лечение приводит к удержанию антитела или его функционального фрагмента в стенке желудочно-кишечного тракта без значительного системного высвобождения в остальную часть тела.

15 [66] Композиция для применения по любому из предыдущих пунктов, где указанное лечение включает введение пациенту антитела или его функционального фрагмента один раз в неделю, два раза в неделю, один раз каждый третий день, один раз каждый второй день, один раз в день, два раза в день или три раза в день.

20 [67] Композиция для применения по любому из предыдущих пунктов, при местном лечении подвздошной кишки, терминального отдела подвздошной кишки, слепой кишки, восходящей ободочной кишки, поперечной ободочной кишки и/или нисходящей ободочной кишки пациента.

25 [68] Композиция для применения по любому из предыдущих пунктов, где местное лечение диареи, колита или энтероколита, вызванных ингибитором ИСР, определяется одним или несколькими симптомами, выбранными из группы, состоящей из диареи с количеством стула менее чем на 4 раза выше исходного уровня, диареи с количеством стула на 4-6 раз выше исходного уровня, диареи с количеством стула более чем на 6 раз выше исходного уровня, диареи с количеством стула более чем на 7 раз выше исходного уровня, боли в животе, 30 тошноты, спазмов, крови или слизи в стуле или изменений в поведении кишечника, лихорадки, вздутия живота, кишечной непроходимости и запора.

[69] Композиция для применения по любому из предыдущих пунктов, где местное лечение предотвращает, сводит к минимуму и/или замедляет или облегчает один или несколько симптомов, связанных с диареей, колитом или

энтероколитом, вызванных ингибитором ИСР, выбранных из группы, состоящей из диареи с количеством стула менее чем на 4 раза выше исходного уровня, диареи с количеством стула на 4-6 раз выше исходного уровня, диареи с количеством стула более чем на 6 раз выше исходного уровня, диареи с количеством стула более чем на 7 раз выше исходного уровня, боли в животе, тошноты, спазмов, крови или слизи в стуле или изменений в поведении кишечника, лихорадки, вздутия живота, кишечной непроходимости и запора.

ОПИСАНИЕ РИСУНКОВ

10 На **Фигуре 1** показан % изменения массы тела относительно дня 0, см. Пример 3. Данные представлены в виде среднего значения \pm стандартная ошибка. $n = 5-12$ на группу.

15 На **Фигуре 2** показаны гистологический индекс и эндоскопический индекс у животных, получавших лечение, в течение периода времени, см. Пример 3. *: $p < 0,05$, как определено с помощью однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA) с апостериорным критерием множественных сравнений Даннета, использованным для сравнения всех групп с контрольной группой носителя. Данные представлены как среднее \pm стандартная ошибка. $n = 5-12$ на группу.

20 На **Фигуре 3** показан гистологический индекс в день умерщвления (d49), см. Пример 3. **: $p < 0,01$, ***: $p < 0,005$, как определено с помощью однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA) с апостериорным критерием множественных сравнений Даннета, использованным для сравнения всех групп с контрольной группой носителя. Данные представлены как среднее \pm стандартная ошибка. $n = 5-12$ на группу.

25 На **Фигуре 4** показаны концентрации цитокинов в толстой кишке леченных мышей, определенные на 49 день, см. Пример 3. *: $p < 0,05$, как определено с помощью однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA) с апостериорным критерием множественных сравнений Даннета, использованным для сравнения всех групп с контрольной группой носителя. Данные представлены как среднее \pm стандартная ошибка. $n = 5-12$ на группу.

30 На **Фигуре 5** показано влияние на гистологический индекс после лечения с cV1q-huFc, см. Пример 4. Общий гистологический индекс, который представляет собой сумму отдельных баллов (0-5 каждый) для воспаления, повреждения крипт, эрозии, гиперплазии и отека на 42 день в проксимальном, среднем и

дистальном отделе толстой кишки. *: $p < 0,05$, **: $p < 0,01$, ****: $p < 0,0001$, как определено с помощью теста Краскала-Уоллеса с апостериорным критерием множественных сравнений Дана, использованным для сравнения всех групп с соответствующей контрольной группой носителя. Данные представлены как среднее \pm стандартная ошибка. $n = 6-12$ на группу. В качестве контроля использовали внутрибрюшинное введение cV1q.

На **Фигуре 6** показано влияние на цитокины в толстой кишке, см. Пример 4. Цитокины в ткани толстой кишки измеряли с помощью ELISA, и результаты нормировали к массе ткани в мг. *: $p < 0,05$, **: $p < 0,01$, ***: $p < 0,005$, ****: $p < 0,001$, как определено с помощью однофакторного ANOVA с апостериорным критерием множественных сравнений Даннета, использованным для сравнения всех групп с контрольной группой носителя. Данные представлены как среднее \pm стандартная ошибка. $n = 6-12$ на группу. В качестве контроля использовали внутрибрюшинное введение cV1q.

На **Фигуре 7** показана средняя концентрация лекарственного средства cV1q-huFc в плазме у здоровых мышей и мышей Tg32-SCID с колитом после ректального введения (см. Пример 5). Образцы плазмы отбирали через 1, 2, 4, 8, 24 и 48 часов у животных, получавших однократную дозу (SD), и через 24, 48, 72, 96, 120 и 144 часа после первой дозы у животных, получавших многократную дозу (MD). Концентрации cV1q-huFc в плазме определяли с помощью Imperacer® Immuno-PCR. Профили SD и MD основаны на двух подгруппах из-за ограничений при сборе крови (SD: 1, 4 и 24 часа для подгруппы 1 и 2, 8 и 48 часов для подгруппы 2; MD: 24, 72 и 120 часов для подгруппы 1 и 48, 96 и 144 часов для подгруппы 2). Данные представлены как среднее \pm стандартное отклонение ($n = 5-7$).

На **Фигуре 8** показаны средние концентрации cV1q-huFc в плазме после интрацекального введения здоровым мышам и мышам, страдающим колитом (см. Пример 6). Образцы плазмы отбирали при умерщвлении через 1, 4, 8, 12 и 24 часа после введения разовой дозы мышам Tg32-SCID и через 120 часов после первой дозы у животных, которым вводили несколько доз. Концентрации cV1q-huFc в плазме определяли с помощью Imperacer® Immuno-PCR. Данные представлены в виде среднего \pm IQR ($n = 4$). и.ц.: интрацекальный; в.р.: внутривентральный.

На **Фигуре 9** показаны средние концентрации cV1q-huFc в проксимальном и дистальном отделах толстой кишки после интрацекального или ректального введения (см. Пример 6). Образцы ткани проксимального и дистального отделов толстой кишки отбирали при умерщвлении через 1, 4, 8, 12 и 24 часа после введения разовой дозы мышам Tg32-SCID и через 120 часов после введения первой дозы у животных, которым вводили несколько доз. Образцы тканей промывали, взвешивали и гомогенизировали в 0,3 мл ФСБ. Концентрации cV1q-huFc в супернатанте определяли с помощью коммерчески доступного IgG ELISA. Полученные концентрации (пг/мл) затем нормировали к массе ткани. Данные представлены в виде среднего \pm IQR (n = 4). и.ц.: интрацекальный; в.р.: внутриректальный. *: Среднее значение представляло собой BLQ в проксимальном отделе толстой кишки через 1 и 4 часа для здоровых животных, через 1, 4 и 8 часов для мышей с колитом, получавших 300 мкг cV1q-huFc, и в дистальном отделе толстой кишки через 12 часов для мышей с колитом, получавших 100 мкг.

На **Фигуре 10** показано влияние Ab-REW и инфликсимаба на секрецию IFN γ после лечения ниволумабом (см. Пример 7). Моноциты CD14⁺ выделяли из PBMC (моноклеарные клетки периферической крови) и дифференцировали в течение 7 дней в дендритные клетки моноцитарного происхождения (mo-DC) путем добавления GM-CSF и IL-4 в среду для культивирования клеток. CD4⁺ Т-клетки также выделяли из PBMC. CD4⁺ Т-клетки и mo-DC объединяли при соотношении Т-клетки: DC 5: 1 и инкубировали вместе с ниволумабом (10 мкг/мл) и серийно разведенными Ab-REW или инфликсимабом (50 - 0,003 мкг/мл) в течение 5 дней. Затем с помощью ELISA определяли концентрации IFN γ в супернатантах клеточных культур. Данные представлены в виде среднего значения (\pm стандартная ошибка) с n = 3 техническими повторами. По возможности выполнялась нелинейная регрессия 4-PL. Нижняя пунктирная линия представляет собой среднюю секрецию IFN γ необработанными клетками. Верхняя пунктирная линия представляет среднюю секрецию IFN γ только в присутствии ниволумаба (n = 6 для всех контролей).

ДЕТАЛЬНОЕ ОПИСАНИЕ

Настоящее изобретение описано ниже в отношении антител, специфичных к фактору некроза опухоли альфа (TNF α), и их функциональных фрагментов и

производных, которые представляют собой наиболее предпочтительные варианты осуществления. Все варианты осуществления, описанные ниже, в равной степени применимы к антителам и их функциональным фрагментам и производным, направленным на другие мишени (антигены) с необходимыми изменениям. Мишени этих антител и их функциональных фрагментов включают, но не ограничиваются ими, противовоспалительные цитокины, такие как IL-13, а также их рецепторы; провоспалительные цитокины, такие как CD20, IL-6, IL-12 и IL-23 (IL-12/IL-23p40, IL-23p19), IL-17, IL-21, а также их рецепторы; молекулы клеточной адгезии, такие как MadCAM-1, ICAM-1; С-С хемокиновые рецепторы, такие как CCR5, CCR9 и их лиганды; интегрины, такие как альфа4бета7, бета7, альфа2бета1, альфаЕбета7; toll-подобные рецепторы, такие как TLR2, TLR9; эотаксины, такие как Эотаксин-1; члены суперсемейства рецепторов фактора некроза опухолей, такие как OX40; матриксные металлопротеиназы, такие как MMP-9; Хемокины с мотивом С-Х-С, такие как IP-10; и другие белки, такие как CD20. Предпочтительными мишенями являются интегрин $\alpha 4\beta 7$ и IL-23.

Настоящее изобретение, согласно первому аспекту изобретения, относится к фармацевтической композиции, содержащей активный агент, выбранный из группы, состоящей из антител, специфичных к фактору некроза опухоли альфа (TNF α), и их функциональных фрагментов и производных, для применения в лечении или профилактике по меньшей мере одного побочного эффекта со стороны желудочно-кишечного тракта, вызванного терапией рака у пациента, предпочтительно вызванного одним или несколькими ингибиторами иммунных контрольных точек (ICP), где указанное лечение или профилактика включает местное введение указанной композиции в подвздошную кишку и/или толстую кишку указанного пациента.

Изобретение также относится к фармацевтической композиции, содержащей активный агент, выбранный из группы, состоящей из антител, специфичных к фактору некроза опухоли альфа (TNF α), и их функциональных фрагментов и производных, для местного лечения подвздошной кишки и/или толстого кишечника у пациента, страдающего колитом, энтероколитом или диареей, вызванными ингибиторами иммунных контрольных точек (ICP). Эта заявленная композиция позволяет проводить непрерывное системное лечение одним или несколькими ингибиторами ICP. Это имеет то преимущество, что не нужно ставить под угрозу успешное лечение рака с помощью ингибитора ICP.

Более того, местное лечение антителами, специфичными к $TNF\alpha$, и их функциональными фрагментами и производными, значит, что не требуется применение кортикостероидов, а также системно применяемых антител, специфичных к $TNF\alpha$, и их функциональных фрагментов и производных, тем самым сводя к минимуму нежелательные побочные эффекты такого лечения.

В контексте настоящего изобретения термин «антитело» используется как синоним «иммуноглобулина» (Ig), который определяется как белок, принадлежащий классу IgG, IgM, IgE, IgA или IgD (или любому его подклассу), и включает все традиционно известные антитела и их функциональные фрагменты и производные. В контексте настоящего изобретения «функциональный фрагмент или производное» антитела/иммуноглобулина определяется как антигенсвязывающий фрагмент или другое производное родительского антитела, которое по сути сохраняет антигенсвязывающие свойства такого родительского антитела. В предпочтительном варианте осуществления функциональный фрагмент или производное антитела включает функциональную часть F_c , проявляющую, по меньшей мере, эффекторную функцию. В одном варианте осуществления антитело способно связываться с человеческим $Fc\gamma Rn$.

«Антигенсвязывающий фрагмент или производное» антитела/иммуноглобулина определяется как фрагмент (например, переменная область IgG) или производное, которое сохраняет антигенсвязывающую область. «Антигенсвязывающая область» антитела обычно находится в одной или нескольких гиперпеременной(ых) области(ях) антитела, то есть в областях CDR-1, -2 и/или -3. «Антигенсвязывающие фрагменты» настоящего изобретения включают домен фрагмента $F(ab')_2$ и фрагмента Fab. «Функциональные фрагменты и производные» по настоящему изобретению включают фрагмент Fab, фрагмент $F(ab')_2$, фрагмент Fab', scFv, dsFv, диатело, триабоди, тетратело, слитый белок F_c , Vorabody, антитело верблюдовых, VHH, VNAR и миниантитело. Домен $F(ab')_2$ или Fab может быть сконструирован для минимизации или полного удаления межмолекулярных дисульфидных взаимодействий, которые происходят между доменами CH1 и CL. Антитела или функциональные фрагменты по настоящему изобретению могут быть частью би- или многофункциональных конструкций.

Функциональные фрагменты и производные по настоящему изобретению включают, но не ограничиваются ими, фрагменты Fab, фрагменты F(ab')₂, фрагменты Fab', scFv и диатела.

Fab-фрагменты могут быть получены в виде очищенных продуктов расщепления после расщепления TNF α -специфического антитела цистеиновой протеиназой, такой как папаин (ЕС 3.4.22.2). Фрагменты F(ab')₂ могут быть получены в виде очищенных продуктов расщепления после расщепления TNF α -специфического антитела пепсином (ЕС 3.4.23.1) или IdeS (фермент, разрушающий иммуноглобулин, из *Streptococcus pyogenes*; ЕС 3.4.22). Фрагменты Fab' могут быть получены из фрагментов F(ab')₂ в мягких восстанавливающих условиях, в результате чего каждая молекула F(ab')₂ дает два фрагмента Fab'.

ScFv представляет собой одноцепочечный фрагмент Fv, в котором переменный домен легкой цепи («V_L») и переменный домен тяжелой цепи («V_H») связаны пептидным мостиком.

«Диатело» представляет собой димер, состоящий из двух фрагментов, каждый из которых имеет переменные области, соединенные вместе посредством линкера или подобного (в дальнейшем называемые образующими диатело фрагментами), и обычно содержит два V_L и два V_H. Образующие диатело фрагменты включают фрагменты, состоящие из V_L и V_H, V_L и V_L, V_H и V_H и т.д., предпочтительно V_H и V_L. В образующих диатело фрагментах линкер, соединяющий переменные области, конкретно не ограничен, но предпочтительно достаточно короткий, чтобы избежать нековалентных связей между переменными участками в одном и том же фрагменте. Длину такого линкера при необходимости могут определить специалисты в данной области, но обычно используются 2-14 аминокислот, предпочтительно 3-9 аминокислот, особенно 4-6 аминокислот. В этом случае V_L и V_H, кодируемые одним и тем же фрагментом, соединяются через линкер, достаточно короткий, чтобы избежать нековалентных связей между V_L и V_H в одной цепи и избежать образования одноцепочечных фрагментов переменной области, таким образом, чтобы могли образовываться димеры с другим фрагментом. Димеры могут быть образованы либо ковалентными, либо нековалентными связями между образующими диатело фрагментами.

Более того, образующие диатела фрагменты могут быть соединены через линкер или тому подобное с образованием одноцепочечных диател ($sc(Fv)_2$). Путем соединения образующих диатело фрагментов с использованием длинного линкера из примерно 15-20 аминокислот могут быть образованы нековалентные связи между образующими диатело фрагментами, существующими в одной и той же цепи, с образованием димеров. Основываясь на том же принципе, что и для получения диател, полимеризованные антитела, такие как тримеры или тетрамеры, также могут быть получены путем соединения трех или более образующих диатело фрагментов.

10 В одном варианте осуществления функциональный фрагмент или производное антитела представляет собой Fab фрагмент, $F(ab')_2$ фрагмент, Fab' фрагмент, scFv, dsFv, диатело, триатело, тетратело, слитый белок Fc, Vorabody, антитело верблюдовых, VHH, VNAR или миниантитела. Предпочтительными функциональными фрагментами или производными, используемыми в
15 настоящем изобретении, являются фрагменты Fab, фрагменты $F(ab')_2$, фрагменты Fab', scFv и диатела.

Антитело или его функциональный фрагмент или производное, включенные в композицию в соответствии с изобретением, специфически связываются с TNF α , но в остальном особо не ограничиваются. Термины «анти-TNF α антитело», «TNF α антитело», «TNF α специфичное антитело» и «антитело, специфичное к TNF α », используемые в данном документе, являются взаимозаменяемыми. В его наиболее общей форме (и когда не упоминается конкретная ссылка), «специфичное» и «специфичное связывание» к способности антитела или функционального фрагмента или производного различать TNF α
20 человека и неродственную биомолекулу, как определено, например, в соответствии со способами анализа специфичности, известными в данной области. Такие способы включают, но не ограничиваются ими, Вестерн-блоттинг и твердофазный иммуноферментный анализ (ELISA). Например, можно провести стандартный анализ ELISA. Обычно определение специфичности связывания
25 выполняется с использованием не одной эталонной биомолекулы, а набора из примерно трех-пяти неродственных биомолекул, таких как сухое молоко, БСА, трансферрин и т.п. В одном варианте осуществления специфическое связывание относится к способности антитела или фрагмента различать человеческий TNF α и человеческий TNF β . В предпочтительном варианте осуществления настоящего

изобретения TNF α антитело или его функциональный фрагмент представляет собой TNF α антитело. В альтернативном предпочтительном варианте осуществления настоящего изобретения TNF α антитело или его функциональный фрагмент представляет собой функциональный фрагмент или производное TNF α антитела.

В предпочтительном аспекте изобретения антитело в соответствии с изобретением представляет собой нефукозилированное антитело или антитело, имеющее пониженное фукозилирование. Термин «антитело, имеющее пониженное фукозилирование» в контексте настоящего описания относится к антителу, в котором фукозилировано менее 90% N-гликанов антитела. Способы определения процента фукозилирования известны в данной области. В одном варианте осуществления фукозилировано менее 75%, или менее 50%, или менее 25% N-гликанов антитела. Наиболее предпочтительно, чтобы менее 10% N-гликанов антитела были фукозилированными. В конкретном варианте осуществления N-гликаны антитела в соответствии с изобретением не содержат фукозу. Предпочтительно менее 90% N-гликанов в положении N297 (нумерация ЕС) антитела являются фукозилированными. В другом варианте осуществления фукозилировано менее 75%, или менее 50%, или менее 25% N-гликанов в положении N297 (нумерация ЕС) антитела. Наиболее предпочтительно, чтобы менее 10% N-гликанов в положении N297 (нумерация ЕС) антитела были фукозилированными. В другом варианте реализации N-гликаны в положении N297 антитела не содержат фукозы.

Нефукозилированные антитела, иногда также называемые афукозилированными антителами, могут быть получены различными способами. Например, синергетический нокдаун генов α 1,6-фукозилтрансферазы (FUT8) и GDP-манноза-4,6-дегидратазы (GMD) в клетках CHO можно использовать для получения вариантов моноклональных антител, которые полностью афукозилированы и ADCC-усилены (см., например, Imai-Nishiya и соавт. (2007) BMC Biotechnol. 7, 84). Способ с использованием цинк-пальцевых нуклеаз (ZFN), расщепляющих ген FUT8 в области, кодирующей каталитическое ядро α 1,6-фукозилтрансферазы и, таким образом, нарушая соответствующую ферментативную функцию в клетках CHO, может быть использован для получения моноклональных антител, полностью лишенных коровой фукозы (см., например, Malphettes и соавт. (2010) Biotechnol. Bioeng. 106, 774–783).

Антитела с пониженным фукозилированием могут быть получены путем добавления субстрата-ловушки, такого как 2-дезоксидезокси-2-фтор-2-фукоза, в культуральную среду (см., например, Dekker и соавт. (2016) *Sci Rep* 6: 36964), что приводит к снижению включению фукозы в IgG-Fc гликаны.

5 В другом варианте осуществления антитело в соответствии с изобретением имеет высокое содержание сиаловой кислоты. Может быть достигнуто увеличение сиалирования, например, путем одновременной трансфекции цитидинмонофосфат- сиаловой кислоты синтазы (CMP-SAS), переносчика цитидинмонофосфат-сиаловой кислоты (CMP-SAT) и α 2,3-сиалилтрансфераз
10 (см., например, Son и соавт. (2011) *Glycobiology* 21, 1019–1028).

Предпочтительно сродство при pH 6 к человеческому FcRn антитела в соответствии с изобретением является высоким. Связывание антитела с высоким сродством к человеческому FcRn при pH 6 характеризуется значением K_D менее 500 нМ. Предпочтительно значение K_D для связывания с высоким сродством при
15 pH 6 составляет менее 400 нМ, или менее 300 нМ или менее 200 нМ. Например, значение K_D , характеризующее сродство при pH 6, может находиться в диапазоне от 1 до 500 нМ, или от 2 до 400 нМ, или от 3 до 300 нМ, или от 4 до 200 нМ, или от 5 до 100 нМ.

В одном варианте осуществления сродство антитела в соответствии с
20 изобретением к человеческому FcRn при pH 6 больше, чем сродство инфликсимаба к человеческому FcRn при pH 6,0.

Сродство антитела в соответствии с изобретением к человеческому FcRn предпочтительно определяют с помощью поверхностного плазменного резонанса (SPR).

25 Несколько моноклональных антител против TNF α были описаны в предшествующем уровне техники. Meager и соавт. (*Hybridoma*, 6, 305-311, 1987) описывают мышинные моноклональные антитела против рекомбинантного TNF α . Fendly и соавт. (*Hybridoma*, 6, 359-370, 1987) описывают использование мышинных моноклональных антител против рекомбинантного TNF α для
30 определения нейтрализующих эпитопов на TNF. Кроме того, в международной патентной заявке WO 92/11383 раскрыты рекомбинантные антитела, включая антитела с привитыми CDR, специфичные для TNF α . Патент США № 5919452 раскрывает химерные анти-TNF α антитела и их применение для лечения патологий, связанных с присутствием TNF α . Другие антитела против TNF α

описаны в Stephens и соавт. (Immunology, 85, 668-674, 1995), GB-A-2 246 570, GB-A-2 297 145, US 8673 310, US 2014/0193400, EP 2390 267 B1, US 8,293,235, US 8,697,074, WO 2009/155723 A2 и WO 2006/131013 A2.

В настоящее время одобренные анти-TNF α антитела включают (I)
5 инфликсимаб, химерное моноклональное антитело IgG (Remicade®, Inflectra®,
Remsima®); (II) этанерцепт, димерный слитый белок TNFR2 с Fc IgG1 (Enbrel®);
(III) адалимумаб, полностью человеческое моноклональное антитело (mAb)
(Humira®), (IV) цертолизумаб пегол, ПЭГилованный Fab фрагмент (Cimzia®)
и (V) голимумаб, человеческое моноклональное антитело IgG1 (Simponi®).
10 Любая ссылка в данном документе на INN антитела или его функционального
фрагмента или производного охватывает их биоаналогичные и биоулучшенные
версии. В одном варианте осуществления настоящего изобретения анти-TNF α
антитело или его функциональный фрагмент или производное выбирают из
инфликсимаба, адалимумаба, этанерцепта, цертолизумаба пегола и голимумаба
15 или их функциональных фрагментов или производных. В другом варианте
осуществления настоящего изобретения антитело или его функциональный
фрагмент или производное выбирают из анти-TNF α антител или их
функциональных фрагментов или производных, как описано в WO 2017/158092,
WO 2017/158097, WO 2017/158084 и WO 2017/158079. В еще одном варианте
20 осуществления настоящего изобретения по меньшей мере одно антитело или его
функциональный фрагмент или производное представляет собой анти-TNF α
антитело или его функциональный фрагмент или производное с переменным
доменом легкой цепи и/или переменным доменом тяжелой цепи, содержащим
определяющие комплементарность области (CDR) с аминокислотными
25 последовательностями, как описано в заявках PCT WO 2017/158092, WO
2017/158097, WO 2017/158084 и WO 2017/158079.

В предпочтительном варианте осуществления настоящего изобретения
антитело, или его функциональный фрагмент, или его производное выбирают из
анти-TNF α антител или их функциональных фрагментов или производных с
30 переменным доменом легкой цепи и/или переменным доменом тяжелой цепи,
содержащим один или несколько CDR с аминокислотными
последовательностями, как описано в SEQ ID NO:7, 9, 12, 14, 24 и 25 патентной
заявки WO 2017/158079, у SEQ ID NO:7-11 и 6 патентной заявки
WO 2017/158097, у SEQ ID NO:7-12 патентной заявки WO 2017/158092, в SEQ

ID NO: 1-4, 7 и 6 патентной заявки WO 2017/158084, и их комбинации. В другом предпочтительном варианте осуществления настоящего изобретения антитело или его функциональный фрагмент или производное выбирают из анти-TNF α антител или их функциональных фрагментов или производных с переменным доменом легкой цепи и переменным доменом тяжелой цепи, содержащим CDR с аминокислотными последовательностями, как описано в пункте 2 патентной заявки WO 2017/158079, в пункте 2 патентной заявки WO 2017/158097, в пункте 2 патентной заявки WO 2017/158092 и/или в пункте 2 патентной заявки WO 2017/158084 в том виде, в котором они были первоначально поданы. В еще одном предпочтительном варианте осуществления настоящего изобретения анти-TNF α антитело или его функциональный фрагмент или производные выбирают из группы, состоящей из анти-TNF α антител или их функциональных фрагментов или производных, содержащих аминокислотную последовательность переменного домена тяжелой цепи и/или аминокислотную последовательность переменного домена легкой цепи согласно пункту 4 Формулы патентной заявки WO 2017/158079, пунктам 5 и 6 Формулы патентной заявки WO 2017/158097, пунктам 5 и 6 Формулы патентной заявки WO 2017/158092, пункту 4 Формулы патентной заявки WO 2017/158084 и их комбинациям.

В предпочтительном варианте осуществления антитело содержит (I) домен V_L, содержащий участок CDR1, имеющий аминокислотную последовательность, как показано в SEQ ID NO: 3, участок CDR2, имеющий аминокислотную последовательность, как показано в SEQ ID NO: 4, и участок CDR3, имеющий аминокислотную последовательность, как показано в SEQ ID NO: 5; и (II) домен V_H, содержащий участок CDR1, имеющий аминокислотную последовательность, как показано в SEQ ID NO: 6, участок CDR2, имеющий аминокислотную последовательность, как показано в SEQ ID NO: 7, и участок CDR3, имеющий аминокислотную последовательность, как показано в SEQ ID NO: 8. Более предпочтительно антитело включает домен V_L, имеющий аминокислотную последовательность, как показано в SEQ ID NO: 10, и домен V_H, имеющий аминокислотную последовательность, как показано в SEQ ID NO: 9.

В другом предпочтительном варианте осуществления (который может быть объединен с любым из вариантов осуществления в предыдущем абзаце) антитело содержит область Fc, содержащую аминокислоты с 236 по 451 аминокислотной последовательности, как показано в SEQ ID NO: 11.

Наиболее предпочтительно антитело включает легкую цепь, имеющую аминокислотную последовательность, как показано в SEQ ID NO: 1, и тяжелую цепь, имеющую аминокислотную последовательность, как показано в SEQ ID NO: 11, 14, 15 или 16.

5 В одном варианте осуществления антитело содержит легкую цепь, имеющую аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 1, и тяжелую цепь, имеющую аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 11. В другом варианте осуществления антитело содержит легкую цепь, имеющую аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO:
10 1, и тяжелую цепь, имеющую аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 14. В другом варианте осуществления антитело включает легкую цепь, имеющую аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 1, и тяжелую цепь, имеющую аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 15. В другом варианте осуществления антитело содержит легкую
15 цепь, имеющую аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 1, и тяжелую цепь, имеющую аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 16.

В еще одном варианте осуществления антитело включает легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, показанной в SEQ ID NO: 1,
20 и тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, показанной в SEQ ID NO: 11. В еще одном варианте осуществления антитело включает легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, показанной в SEQ ID NO: 1, и тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной
25 последовательности, показанной в SEQ ID NO: 14. В еще одном варианте осуществления антитело включает легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, показанной в SEQ ID NO: 1, и тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, показанной в SEQ ID NO: 15. В еще одном
варианте осуществления антитело включает легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, показанной в SEQ ID NO: 1, и тяжелую
30 цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, показанной в SEQ ID NO: 16.

В другом варианте осуществления TNF α антитело представляет собой инфликсимаб, адалимумаб, этанерцепт, цертолизумаб пегол или голимумаб. В альтернативном дополнительном варианте осуществления функциональный

фрагмент или производное TNF α антитела представляет собой функциональный фрагмент или производное инфликсимаба, адалимумаба, этанерцепта, цертолизумаба пегола или голимумаба.

Антитело, специфичное к TNF α , или его функциональный фрагмент или производное, может дополнительно включать одну или несколько модификаций, например, в виде добавленных или замещенных остатков, которые улучшают стабильность, специфичность или нацеливание. Они могут включать любые такие модификации, известные в данной области. В одном варианте осуществления настоящего изобретения по меньшей мере одно антитело, специфичное к TNF α , или его функциональный фрагмент или производное, включает одну или несколько модификаций любых таких модификаций, раскрытых в US 8 871 204, US 67 37 056, US 8 742 074, WO 2002/060919, WO 2017/158426, международных патентных заявках PCT / EP2018/074525 (WO 2019/057567 A1), PCT/EP2018/074523 (WO 2019/057565 A1) или PCT/EP2018/074522 (WO 2019/057564 A1).

В конкретном варианте осуществления аминокислотная последовательность тяжелой цепи антитела включает I) аминокислоты 233P, 234V, 235A и делецию в положении аминокислоты 236; и аминокислоту 434A или аминокислоты 252Y, 254T и 256E; и необязательно аминокислоты 239D, 330L и 332E или аминокислоты 326A, 332E и 333A (нумерация ЕС); и/или II) аминокислоты 380A и 434A и, необязательно, аминокислоту 307T (нумерация ЕС); и/или III) аминокислоту 434W и, необязательно, аминокислоту 428E и/или аминокислоту 311R (нумерация ЕС). В другом конкретном варианте осуществления аминокислотная последовательность тяжелой цепи антитела содержит мутации в одном или нескольких положениях, выбранных из группы, состоящей из 311, 428, 434, 435 и 438 (нумерация ЕС). Предпочтительно аминокислотная последовательность тяжелой цепи антитела включает аминокислоту 434W, аминокислоту 428E и аминокислоту 311R (нумерация ЕС). Наиболее предпочтительно антитело включает домен Fc, содержащий аминокислоты с 236 по 451 аминокислотной последовательности, показанной в SEQ ID NO: 11. Антитела, содержащие определенные аминокислоты, описанные в этом параграфе, могут быть получены путем введения замен в последовательность тяжелой цепи, например, в последовательность, показанную в SEQ ID NO: 2.

Если здесь не указано иное, ссылки на номера остатков в аминокислотной последовательности антител соответствуют нумерации остатков в системе нумерации ЕС, также называемой индексом ЕС, как описано в Kabat и соавт., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5-ая ред. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md., 1991 г. (см., например, WO 5 2006/073941).

Фармацевтическая композиция в соответствии с изобретением может содержать в качестве активного агента один тип антитела, специфичного к TNF α , или его функциональный фрагмент или производное, или несколько 10 различных антител, специфичных к TNF α , и/или функциональные фрагменты или производные антител, специфичных к TNF α . Например, композиция в соответствии с изобретением может содержать 1, 2, 3, 4 или 5 различных антител, специфичных к TNF α , и функциональные фрагменты или производные антител, специфичных к TNF α .

Используемые в данном описании термины «лечить», «лечащий» и «лечение» в отношении диареи, колита или энтероколита, вызванных ингибитором ICP, относятся к введению TNF-специфических антител или их функциональных фрагментов или производных как части композиции изобретения для предотвращения, минимизации или отсрочки появления 20 симптомов, осложнений или аналогичных биохимических признаков диареи, колита или энтероколита, вызванных ингибитором ICP, или для облегчения или минимизации симптомов, осложнений или аналогичных биохимических признаков диареи, колита или энтероколита, вызванных ингибитором ICP.

Термин «местное лечение» в контексте настоящего изобретения 25 используется для описания местного применения композиции, в отличие от системного применения композиций, содержащих TNF α антитело, например, путем внутривенной инфузии или подкожной инъекции, используемой в коммерческих продуктах. Однако местное лечение просвета подвздошной кишки и толстого кишечника не ограничивается способом введения композиции.

Термин «введение» в этом контексте относится к способу и форме, в которой композиция входит в первый контакт с телом пациента. Это означает, что композицию в подходящей форме можно вводить перорально, ректально или 30 любым другим способом, который приводит к накоплению композиции в месте местного применения.

В настоящем изобретении термин «местное лечение в подвздошной кишке и/или толстом кишечнике» относится к местному применению, как определено выше, в просвете подвздошной кишки и/или толстом кишечнике, другими словами, местному применению где-нибудь в объединенном и непрерывном внутреннем пространстве, состоящем из подвздошной кишки тонкого кишечника и толстого кишечника. «Толстый кишечник» является последним отделом желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) и может быть далее подразделен на слепую, толстую и прямую кишку. "Толстая кишка" может быть далее разделена на восходящую, поперечную и нисходящую толстую кишку. "Подвздошная кишка" тонкого кишечника является последним отделом тонкого кишечника и одним концом соединена со слепой кишкой. "Конечная подвздошная кишка" представляет собой последний отдел подвздошной кишки, которая непосредственно прилегает к слепой кишке. Термин «желудочно-кишечный тракт» или «ЖКТ», используемый в данном документе, описывает систему органов человеческого тела, которая включает в себя все структуры между ртом и анусом, образующие непрерывный проход, и отвечает за переваривание проглоченного материала, поглощение питательных веществ и выведение фекалий. В одном варианте осуществления настоящего изобретения композиция по изобретению предназначена для местного лечения терминальной части подвздошной кишки и/или толстого кишечника, предпочтительно толстой кишки. В другом варианте осуществления настоящего изобретения композиция по изобретению предназначена для местного лечения терминального отдела подвздошной кишки, слепой кишки, восходящей ободочной кишки, поперечной ободочной кишки и/или нисходящей ободочной кишки пациента.

Местное лечение фармацевтической композицией в соответствии с настоящим изобретением позволяет местное применение TNF α антител и их функциональных фрагментов или производных в просвете подвздошной кишки и/или толстого кишечника пациента. Таким образом, можно избежать системного применения TNF α антител и их функциональных фрагментов или производных. Таким образом можно минимизировать системное поглощение и распределение TNF α антител и их функциональных фрагментов или производных. Таким образом, TNF α антитела и их функциональные фрагменты или производные не оказывают значительного противодействия успешному лечению рака ингибиторами ICP на системном уровне. Более того, можно свести

к минимуму множество рисков, связанных с системным ингибированием функции иммунной защиты TNF α у пациента, включая, например, инфекционные осложнения и накопление антител, специфичных к анти-TNF α антителу, в организме пациента, что приводит к потере ответа на анти-TNF α антитела.

Композиция в соответствии с изобретением, согласно первому аспекту изобретения, предназначена для лечения пациента, страдающего от индуцированных ингибитором ICP побочных эффектов в подвздошной кишке и/или толстой кишке, а именно от диареи, колита или энтероколита, вызванных ингибитором ICP.

В данном контексте «ингибитор ICP» означает любую молекулу (например, небольшую молекулу, белок, пептид, молекулу нуклеиновой кислоты или антитело), которую вводят пациенту для стимуляции иммунной системы пациента (например, путем разблокирования существующего иммунного ответа или путем разблокирования инициации иммунного ответа) с целью лечения заболевания (например, рака или инфекционного заболевания). Ингибиторы ICP могут нацеливаться на любой компонент иммунных контрольных точек, известный в данной области, который приводит к стимуляции иммунной системы, включая, помимо прочего, CTLA-4, PD-1, PD-L1, PDL2, B7-H3, B7-H4, BTLA, HVEM, TIM3, GAL9, LAG3, CSF-1R, VISTA, KIR, 2B4, CD160, CGEN-15049, CHK1, CHK2, A2aR, ADAR1, CD47 (мишень для ингибиторов CD47), ICOS (мишень для агонистов ICOS), TIGIT (мишень для ингибиторов TIGIT) и лиганды семейства B-7. Могут использоваться комбинации ингибиторов для одного компонента иммунных контрольных точек или различных ингибиторов для разных компонентов иммунных контрольных точек. Иммунные контрольные точки обычно являются частью или состоят из ингибирующих или стимулирующих путей, которые поддерживают самотолерантность и помогают иммунному ответу. Ингибиторы ICP в соответствии с настоящим изобретением включают молекулы, блокирующие путь, и молекулы, стимулирующие этот путь. Например, ингибиторы TIGIT и агонисты ICOS являются ингибиторами ICP в соответствии с настоящим изобретением. Marin-Acevedo и соавт. (2018) *Journal of Hematology & Oncology* 11, статья номер 39 обобщает ингибирующие и стимулирующие пути и их мишени, на которые могут быть нацелены

подходящие ингибиторы ICP. Содержание статьи Marin-Acevedo и соавт. включено в настоящий документ во всей его полноте.

«Побочный эффект» в контексте настоящего описания означает любой неблагоприятный и, как правило, непреднамеренный, даже нежелательный признак (включая аномальные лабораторные данные), симптом или заболевание, связанное с применением лечения. Например, побочный эффект может быть связан с активацией иммунной системы или увеличением количества клеток иммунной системы (например, Т-клеток) в ответ на лечение. Медикаментозное лечение может иметь одно или несколько связанных побочных эффектов, и каждый побочный эффект может иметь одинаковую или разную степень серьезности.

В контексте настоящего изобретения «колит» относится к воспалительному состоянию толстого кишечника, в частности толстой кишки, которое может быть связано с симптомами, включая диарею, боль в животе, тошноту, спазмы, кровь или слизь в стуле или изменения в поведении кишечника, лихорадку, вздутие живота, запоры и отечность, гиперемию и/или рыхлую стенку толстого кишечника. В контексте настоящего изобретения термин «энтероколит» относится к воспалительному состоянию толстого кишечника, в частности толстой кишки, и подвздошной кишки, предпочтительно терминальной части подвздошной кишки тонкого кишечника, которое может быть связано с симптомами, включая диарею, боль в животе, тошноту, спазмы, кровь или слизь в стуле или изменения в поведении кишечника, лихорадку, вздутие живота, кишечную непроходимость и запор или отек, гиперемию и/или рыхлую стенку подвздошной кишки или толстого кишечника.

В контексте настоящего описания термины «колит, вызванный ингибитором ICP» и «энтероколит, вызванный ингибитором ICP» относятся к колиту и энтероколиту, соответственно, которые: (1) впервые возникают у пациента одновременно или вскоре после (т.е. после дней или недель, например, от 1 до 60 недель, от 1 до 48 недель, от 13 до 60 недель или от 7 до 26 недель) первого введения одного или нескольких ингибиторов ICP; (2) идентифицированы врачом как колит или энтероколит, вызванный ингибитором ICP, соответственно, например на основе критериев, изложенных в Практическом руководстве ASCO; и (3) не определены врачом как колит или

энтероколит, соответственно, другой этиологии (например, токсин *Clostridium difficile*).

5 За исключением особо оговоренных случаев, термины «пациент» или «субъект» используются взаимозаменяемо и относятся к млекопитающим, таким как пациенты-люди и нечеловеческие приматы, а также к экспериментальным животным, таким как кролики, крысы и мыши, и другим животным. К животным относятся все позвоночные, например, млекопитающие и не млекопитающие, такие как овцы, собаки, коровы, куры, земноводные и рептилии.

10 Колит, вызванный ингибитором ИСР, может быть отнесен для живого пациента к степени от 1 до 4 в зависимости от токсичности, возникающей в толстом кишечнике и, в частности, в толстой кишке, как следствие лечения пациента одним или несколькими ингибиторами ИСР. Колит, вызванный ингибитором ИСР, классифицируется следующим образом:

- 15 • Колит 1-ой степени имеет бессимптомное течение и выявляется только с помощью рентгенологического или гистологического исследования.
- Колит 2-ой степени характеризуется наличием слизи или крови в стуле и болями в животе.
- Колит 3-ей степени характеризуется сильной болью в животе, лихорадкой, изменением поведения кишечника и перитонеальными симптомами.
- 20 • Колит 4-ой степени представляет собой опасное для жизни состояние с признаками перфорации или кровотечения или ишемии или некроза и развитием токсического мегаколона.
- Колит 5-ой степени приводит к смерти, вызванной колитом.

25 Точно так же энтероколит, вызванный ингибитором ИСР, может быть отнесен к степени 1-4 на основании токсичности, возникающей в тонком кишечнике, в частности в подвздошной кишке, и толстом кишечнике, как следствие лечения пациента одним или несколькими ингибиторами ИСР, и в частности в толстой кишке. Энтероколит, вызванный ингибитором ИСР, классифицируется следующим образом:

- 30 • Энтероколит 1-ой степени имеет бессимптомное течение и выявляется только с помощью рентгенологического или гистологического исследования.
- Энтероколит 2-ой степени характеризуется наличием слизи или крови в стуле и болями в животе;

- Энтероколит 3-ей степени характеризуется сильной или постоянной болью в животе, лихорадкой, кишечной непроходимостью и перитонеальными симптомами.

5 • Энтероколит 4-ой степени представляет собой опасное для жизни состояние с признаками перфорации или кровотечения или ишемии или некроза и развитием токсического мегаколона.

- Энтероколит 5-ой степени приводит к смерти, вызванной энтероколитом.

Диарея, вызванная ингибитором ИСР, классифицируется следующим образом:

10 • Диарея 1-ой степени определяется как увеличение частоты стула < 4 раз по сравнению с исходным уровнем

- Диарея 2-ой степени характеризуется увеличением частоты стула на 4-6 раз по сравнению с исходным уровнем;

15 • Диарея 3-ей степени характеризуется увеличением частоты стула на ≥ 7 раз по сравнению с исходным уровнем;

- Диарея 4-ой степени характеризуется опасными для жизни последствиями из-за диареи;

- Диарея 5-ой степени приводит к смерти.

20 Диагностическая работа по определению токсичности для классификации диареи, колита или энтероколита, вызванных ингибитором ИСР, может проводиться, например, как описано в Практическом руководстве ASCO (Brahmer и соавт., Management of Immune-Related Adverse Events in Patients Treated With Immune Checkpoint Inhibitor Therapy: American Society of Clinical Oncology Practice Guideline, J Clin Oncol. 10 июня 2018 г.; 36 (17): 1714-1768).

25 Согласно Практическому руководству ASCO, диагностическое обследование токсичности 2-ой степени должно включать следующее:

30 – Следует провести анализ крови (общий анализ крови, комплексная метаболическая панель, тиреотропный гормон [TSH], скорость оседания эритроцитов [ESR], С-реактивный белок [CRP]), стул (посев, *Clostridium difficile*, паразиты, цитомегаловирус [CMV] или другая вирусная этиология, яйца глистов и паразиты);

– можно пройти тест на лактоферрин для стратификации пациентов, чтобы определить, кому нужна срочная эндоскопия, и может быть предложен кальпротектин для наблюдения за активностью заболевания;

5 – лабораторный скрининг (на ВИЧ, гепатит А и В и квантифероновый анализ крови на туберкулез) для подготовки пациентов к началу приема инфликсимаба должен проводиться в плановом порядке у пациентов с высоким риском этих инфекций и у пациентов, отобранных надлежащим образом на основе оценки эксперта по инфекционным заболеваниям;

10 – могут быть выполнены визуализация с помощью компьютерной томографии (КТ) брюшной полости и таза и эндоскопия желудочно-кишечного тракта с биопсией, поскольку есть данные, показывающие, что наличие язв в толстой кишке может прогнозировать кортикостероидорезистентное течение, что может потребовать раннего введения инфликсимаба. Инфликсимаб или другой блокатор фактора некроза опухоли (TNF) не следует откладывать в
15 ожидания результатов этих скрининговых тестов;

– повторная эндоскопия может быть предложена пациентам, которые не реагируют на иммунодепрессанты. Повторную эндоскопию для мониторинга заболевания следует предлагать только при наличии клинических показаний и при планировании возобновления терапии.

20 Согласно Практическому руководству ASCO, диагностическое исследование токсичности 3-4 степени должно включать следующее:

– Все исследования, перечисленные для 2-ой степени (кровь, стул, визуализация и эндоскопия с биопсией), должны быть выполнены немедленно;

25 – повторная эндоскопия может быть предложена пациентам, которые не реагируют на иммунодепрессанты. Повторную эндоскопию для мониторинга заболевания следует предлагать только при наличии клинических показаний и при планировании возобновления приема ингибитора ИСР.

30 Согласно одному варианту осуществления изобретения лечение антителом или его фрагментом или производным предотвращает прогрессирование побочного эффекта (например, диареи, колита и/или энтероколита) до более высокой степени токсичности. Следующие ниже варианты осуществления являются предпочтительными.

Пациент, подлежащий лечению, страдает от побочного эффекта (например, диареи, колита и/или энтероколита) токсичности 1-ой степени, а лечение антителом или его фрагментом или производным предотвращает прогрессирующее побочное действие до токсичности более высокой степени, например, до токсичности 2-ой степени.

Пациент, подлежащий лечению, страдает от побочного эффекта (например, диареи, колита и/или энтероколита) токсичности 2-ой степени, а лечение антителом или его фрагментом или производным предотвращает прогрессирующее побочное действие до токсичности более высокой степени, например, до токсичности 3-ей степени.

Пациент, подлежащий лечению, страдает от побочного эффекта (например, диареи, колита и/или энтероколита) токсичности 3-ей степени, а лечение антителом или его фрагментом или производным предотвращает прогрессирующее побочное действие до токсичности более высокой степени, например, до токсичности 4-ой степени.

В одном аспекте изобретение относится к активному агенту, выбранному из группы, состоящей из антител, специфичных к фактору некроза опухоли альфа (TNF α), и их функциональных фрагментов и производных, для применения в профилактике прогрессирующего или ухудшения по меньшей мере одного побочного эффекта со стороны желудочно-кишечного тракта, вызванного терапией рака у пациента, предпочтительно вызванного одним или несколькими ингибиторами иммунных контрольных точек (ICP), где указанная профилактика включает местное введение указанной композиции в подвздошную кишку и/или толстый кишечник указанного пациента. Предпочтительно местное введение представляет собой пероральное введение. Предпочтительно побочный эффект выбирается из группы, состоящей из диареи, колита, энтероколита и их комбинаций, и предотвращается прогрессирующее токсичности от 1-ой степени до токсичности 2-ой или любой более высокой степени. В другом воплощении побочный эффект выбирается из группы, состоящей из диареи, колита, энтероколита и их комбинаций, и предотвращается прогрессирующее токсичности от 2-ой степени до токсичности 3-ей или любой более высокой степени. В другом варианте осуществления побочный эффект выбирается из группы, состоящей из диареи, колита, энтероколита и их комбинаций, и предотвращается прогрессирующее токсичности от 3-ей степени до токсичности

4-ой степени. Предпочтительные варианты осуществления этого аспекта изобретения соответствуют предпочтительным вариантам осуществления других аспектов изобретения, описанных в данном документе с необходимыми изменениями.

5 Согласно другому варианту осуществления изобретения пациент, которого лечат антителом или его фрагментом или производным, страдает от диареи, вызванной ингибитором ICP, но не от колита или энтероколита, и указанное лечение предотвращает развитие или начало колита и энтероколита у указанного пациента.

10 Согласно одному варианту осуществления первого аспекта настоящего изобретения пациент также проходит лечение одним или несколькими ингибиторами ICP. «Также проходит лечение одним или несколькими ингибиторами ICP» означает, что лечение не было окончательно прекращено, но в настоящее время продолжается или было временно прервано. Согласно
15 предпочтительному варианту осуществления пациент также подвергается системному лечению одним или несколькими ингибиторами ICP. Системное лечение или терапия относится к лечению, охватывающему и затрагивающему практически все клетки тела через системный кровоток.

Перед введением композиции в соответствии с настоящим изобретением
20 лечение одним или несколькими ингибиторами ICP при развитии токсичности, связанной с диареей, колитом или энтероколитом, вызванными ингибитором ICP, может быть временно прервано на несколько недель или дней или может быть не остановлено полностью. Согласно одному варианту осуществления
25 настоящего изобретения лечение одним или несколькими ингибиторами ICP прерывается менее чем на четыре недели, предпочтительно менее чем на две недели, более предпочтительно на одну неделю, еще более предпочтительно менее чем на пять, четыре, три, два дня или один день, и наиболее предпочтительно, когда лечение не прерывается.

Степень токсичности пациента с диареей, колитом или энтероколитом,
30 вызванными ингибитором ICP, которому следует вводить композицию в соответствии с настоящим изобретением, особо не ограничивается. Степень токсичности диареи, колита или энтероколита, вызванных ингибитором ICP, может быть определена врачом, например, путем применения Практического руководства ASCO. В одном варианте осуществления пациент страдает диареей,

колитом или энтероколитом, вызванными ингибитором ИСР, с токсичностью 1-ой степени или выше. В другом варианте осуществления пациент страдает диареей, колитом или энтероколитом, вызванными ингибитором ИСР, с токсичностью 2-ой степени или выше. В еще одном варианте осуществления пациент страдает диареей, колитом или энтероколитом, вызванными ингибитором ИСР, с токсичностью 3-ей степени или выше. В дополнительном варианте осуществления пациент страдает диареей, колитом или энтероколитом, вызванными ингибитором ИСР, с токсичностью 4-ой степени.

В соответствии с предпочтительным вариантом осуществления композиция согласно изобретению предназначена для использования в качестве лечения первой линии у пациента с диареей, колитом или энтероколитом, вызванными ингибитором ИСР, вместо стероидного иммунодепрессанта, такого как системный кортикостероид. В одном варианте осуществления пациент не лечится и не лечился кортикостероидом.

В альтернативном варианте осуществления пациент сначала получает стероидный иммунодепрессант (например, кортикостероид, такой как преднизон, преднизолон, метилпреднизолон, дексаметазон или будесонид), и только когда диарея, колит или энтероколит, вызванные ингибитором ИСР, оказываются резистентными к стероидному лечению, пациенту вводят композицию настоящего изобретения. В контексте настоящего описания термины «резистентный к стероидному лечению» и «стероидорезистентная диарея, колит или энтероколит» относятся к диарее, колиту или энтероколиту, вызванным одним или несколькими ингибиторами ИСР, которые не реагируют на стероидную терапию. Таким образом, согласно конкретному альтернативному варианту осуществления композиция в соответствии с изобретением предназначена для использования в качестве лечения второй линии у пациента с резистентной к стероидам диареей, колитом или энтероколитом, вызванными ингибиторами ИСР.

В конкретном варианте осуществления фармацевтическая композиция в соответствии с настоящим изобретением применяется в качестве поддерживающей терапии. То есть композицию вводят для предотвращения повторного появления или рецидива побочного эффекта (диареи, колита и/или энтероколита). Если побочный эффект был успешно вылечен, композицию можно продолжать вводить для предотвращения повторного появления или

рецидива побочного эффекта. Поддерживающая доза активного агента может быть ниже, чем доза, используемая для лечения этого побочного эффекта.

Кроме того, настоящее изобретение во втором аспекте относится к фармацевтической композиции, содержащей активный агент, выбранный из группы, состоящей из антител, специфичных к TNF α , и их функциональных фрагментов или производных, для применения при местном лечении подвздошной кишки и/или толстого кишечника пациента в качестве профилактической терапии диареи, колита или энтероколита, вызванных ингибитором ICP. Что касается терминов «антитела, специфичные к TNF α , и их функциональные фрагменты или производные», «местное лечение в подвздошной кишке и/или толстом кишечнике» и «диарея, колит или энтероколит, вызванные ингибитором ICP», они относятся к подробному описанию выше.

Термин «профилактическая терапия», используемый в контексте настоящего изобретения, относится к введению активного агента в качестве профилактического лечения. Термин «профилактическая терапия диареи, колита или энтероколита, вызванных ингибитором ICP», используемый в контексте настоящего изобретения, относится к введению композиции в соответствии с изобретением до появления симптомов, связанных с диареей, колитом или энтероколитом, в качестве профилактической или полупрофилактической терапии.

Композиция в соответствии с изобретением для применения в качестве местного лечения в подвздошной кишке и/или толстом кишечнике пациента в качестве профилактической терапии позволяет проводить системное лечение одним или несколькими ингибиторами ICP одновременно. «В то же время» в контексте настоящего изобретения относится к терапевтическому режиму, при котором пациент проходит одновременное лечение одним или несколькими ингибиторами ICP.

В предпочтительном варианте осуществления настоящего изобретения пациент одновременно проходит лечение одним или несколькими ингибиторами ICP. В другом предпочтительном варианте осуществления пациент одновременно проходит системное лечение одним или несколькими ингибиторами ICP. Для этого один или несколько ингибиторов ICP можно вводить как часть отдельной композиции в одно и то же время и с той же частотой дозирования, что и композиция в соответствии с изобретением, или в

разное время и/или с другой частотой дозирования. Более того, один или несколько ингибиторов ИСР можно вводить одним и тем же путем введения или другим путем. Подробности касательно пути введения ингибиторов ИСР раскрыты в описании ингибиторов ИСР ниже.

- 5 Например, один или несколько ингибиторов ИСР можно вводить внутривенно или через подкожную или внутримышечную инъекцию, тогда как композицию в соответствии с изобретением вводят перорально или ректально. Альтернативно, как один или несколько ингибиторов ИСР, так и композиция в соответствии с изобретением могут вводиться перорально или ректально. В
- 10 случае введения одного или нескольких ингибиторов ИСР и композиции в соответствии с изобретением одним и тем же путем введения и с одинаковой частотой дозирования один или несколько ингибиторов ИСР могут быть добавлены к композиции в соответствии с изобретением в качестве дополнительного активного агента.
- 15 Посредством введения композиции в соответствии с изобретением в качестве профилактической терапии появление симптомов, связанных с диареей, колитом или энтероколитом, вызванными ингибитором ИСР, может быть отсрочено и/или сведено к минимуму, или даже предотвращено. Таким образом, в одном варианте осуществления композиция в соответствии с изобретением для
- 20 местного лечения в подвздошной кишке и/или толстом кишечнике пациента в качестве профилактической терапии диареи, колита или энтероколита, вызванных ингибитором ИСР, предотвращает или минимизирует и/или замедляет появление симптомов, связанных с диареей, колитом или энтероколитом, вызванными ингибитором ИСР. В предпочтительном варианте осуществления
- 25 пациент страдает от диареи, вызванной ингибитором ИСР, и появление симптомов, связанных с колитом или энтероколитом, вызванными ингибитором ИСР, можно отсрочить и/или минимизировать, или даже предотвратить. Таким образом, композиция в соответствии с изобретением для местного лечения в подвздошной кишке и/или толстом кишечнике пациента в качестве
- 30 профилактической терапии колита или энтероколита, вызванных ингибитором ИСР, предотвращает или минимизирует и/или замедляет симптомы, связанные с колитом или энтероколитом, вызванными ингибитором ИСР.

В другом варианте осуществления композиция в соответствии с изобретением для местного лечения в подвздошной кишке и/или толстом

кишечнике пациента в качестве профилактической терапии диареи, колита или энтероколита, вызванных ингибитором ICP, предотвращает возникновение диареи, колита или энтероколита, вызванных ингибитором ICP. В еще одном варианте осуществления композиция в соответствии с для местного лечения в 5 подвздошной кишке и/или толстом кишечнике пациента в качестве профилактической терапии диареи, колита или энтероколита, вызванных ингибитором ICP, предотвращает появление одного или нескольких симптомов, связанных с диареей, колитом или энтероколитом, вызванными ингибитором ICP.

10 В альтернативном варианте осуществления композиция в соответствии с изобретением для местного лечения в подвздошной кишке и/или толстом кишечнике пациента в качестве профилактической терапии диареи, колита или энтероколита, вызванных ингибитором ICP, задерживает начало и/или сводит к минимуму тяжесть одного или нескольких симптомов, связанных с диареей, 15 колитом или энтероколитом, вызванными ингибитором ICP. Согласно конкретному варианту осуществления местное лечение предотвращает развитие токсичности 3-ей степени, предпочтительно токсичности 2-ой степени, более предпочтительно токсичности 1-ой степени, наиболее предпочтительно любых симптомов, связанных с диареей, колитом или энтероколитом, вызванными ингибитором ICP, у пациента. 20

Применение композиций согласно настоящему изобретению для местного лечения в подвздошной кишке и/или толстом кишечнике у пациента с диареей, колитом или энтероколитом, вызванными ингибитором ICP, или для 25 профилактической терапии диареи, колита или энтероколита, вызванных ингибитором ICP, вместо стандартной схемы лечения, рекомендуемой, например, Практическим руководством ASCO, снижает частоту и/или тяжесть симптомов диареи, колита или энтероколита, вызванных ингибитором ICP, связанных с применением стандартной схемы лечения диареи, колита или энтероколита, вызванных ингибитором ICP.

30 В конкретном варианте осуществления лечение согласно настоящему изобретению связано или приводит к увеличению общей выживаемости пациентов по сравнению с пациентами, которых не лечили в соответствии с настоящим изобретением. Предпочтительно, лечение согласно настоящему изобретению связано или приводит к увеличению общей выживаемости

пациентов по сравнению с пациентами, которых лечили кортикостероидами. Лечение в соответствии с настоящим изобретением может быть связано или приводить к увеличению общей выживаемости пациентов по сравнению с пациентами, которые не получали лечение в соответствии с настоящим изобретением и не лечились кортикостероидами.

Настоящее изобретение является предпочтительным в том, что введение кортикостероидов может быть ненужным. Кортикостероиды часто приводят к увеличению частоты инфицирования, что, в свою очередь, требует приема антибиотиков. Настоящее изобретение позволяет избежать применения кортикостероидов и антибиотиков. Следовательно, в предпочтительном воплощении композицию в соответствии с настоящим изобретением вводят после обнаружения первых признаков энтероколита, колита и/или диареи.

Настоящее изобретение также относится к профилактическому применению описанных здесь композиций. Поэтому в другом варианте осуществления композицию в соответствии с настоящим изобретением вводят до того, как будут обнаружены или обнаружены признаки энтероколита, колита и/или диареи. В другом варианте осуществления композицию в соответствии с настоящим изобретением вводят пациенту, предпочтительно пациенту с раком, более предпочтительно пациенту с раком, которого лечат по меньшей мере одним ингибитором ICP, при этом у указанного пациента не диагностирован энтероколит, колит и/или диарея. В другом варианте осуществления композицию в соответствии с настоящим изобретением вводят пациенту, предпочтительно пациенту с раком, более предпочтительно пациенту с раком, которого лечат по меньшей мере одним ингибитором ICP, при этом указанный пациент не страдает энтероколитом; и/или указанный пациент не страдает колитом; и/или указанный пациент не страдает диареей. У указанного пациента может быть риск развития энтероколита, колита и/или диареи. У указанного пациента можно заподозрить развитие энтероколита, колита и/или диареи. Настоящее изобретение относится к применению описанных здесь композиций для предотвращения начала или развития энтероколита, колита и/или диареи у пациента, предпочтительно больного раком, более предпочтительно больного раком, которого лечат, по меньшей мере, одним ингибитором ICP.

В конкретном варианте осуществления введение активного агента улучшает эффективность лечения ингибитором ICP.

Ингибиторы ICP можно вводить пациенту для лечения таких заболеваний, как рак, или для предотвращения рецидива таких заболеваний. Такое лечение приводит к побочным эффектам, вызванным ингибитором ICP, в определенный момент в большинстве случаев, причем среди наиболее частых побочных 5 эффектов встречаются побочные эффекты со стороны желудочно-кишечного тракта, вызванные ингибитором ICP, такие как вызванная ингибитором диарея, колит или энтероколит.

«Рак» относится к широкой группе заболеваний, характеризующихся неконтролируемым ростом аномальных, обычно эндогенных, клеток в 10 организме. Нерегулируемое деление и рост клеток приводит к образованию злокачественных опухолей, которые проникают в соседние ткани, а также могут метастазировать в отдаленные части тела через лимфатическую систему или кровотоки. Термины «рак», «опухоль» и «новообразование» используются в данном описании взаимозаменяемо.

15 Раковые заболевания, которые можно лечить ингибиторами ICP, особо не ограничиваются. Примеры рака, которые можно лечить ингибиторами ICP, включают без ограничения, такие как: меланома; лимфома, такая как классическая лимфома Ходжкина; глиома; уротелиальная карцинома; рак почек; плоскоклеточный рак головы и шеи; рак простаты; рак молочной железы; рак 20 толстой кишки; и рак легких. Согласно одному варианту осуществления настоящего изобретения один или несколько ингибиторов ICP используются для лечения рака, выбранного из группы, состоящей из таких как: рак кости, рак поджелудочной железы, рак кожи, рак головы или шеи, кожная или внутриглазная злокачественная меланома, рак матки, рак яичников, рак прямой 25 кишки, рак анальной области, рак желудка, рак яичек, рак матки, карцинома маточных труб, карцинома эндометрия, карцинома шейки матки, карцинома влагалища, карцинома вульвы, болезнь Ходжкина, неходжкинская лимфома, рак пищевода, рак тонкой кишки, рак эндокринной системы, рак щитовидной железы, рак парашитовидной железы, рак надпочечников, саркома мягких 30 тканей, рак уретры, рак полового члена, хронический или острый лейкоз, острый миелоидный лейкоз, хронический миелоидный лейкоз, острый лимфобластный лейкоз, хронический лимфоцитарный лейкоз, солидные опухоли детского возраста, лимфоцитарная лимфома, рак мочевого пузыря, рак почки или мочеточника, карцинома почечной лоханки, новообразование центральной

нервной системы (ЦНС), первичная лимфома ЦНС, опухолевый ангиогенез, опухоль оси позвоночника, глиома ствола мозга, аденома гипофиза, болезнь Капоши саркома, эпидермоидный рак, плоскоклеточный рак, Т-клеточная лимфома, раковые образования, вызванные окружающей средой, в том числе
5 вызванные асбестом, и комбинации указанных видов рака.

Ингибирование ICP, например, путем ингибирования (блокирования) компонентов ICP, может осуществляться против различных компонентов ICP, включая, например, PD-1, PD-L1, CTLA-4, LAG-3, ADAR1 и TIM-3 и комбинации таких компонентов ICP. Компонент ICP может быть, без
10 ограничения, например, рецептором или лигандом опухолевых клеток или иммунных клеток, таких как Т-клетки, моноциты, микроглия и макрофаги. Ингибиторы ICP не обязательно должны быть антителами, но также могут быть небольшими молекулами или другими полимерами. Если ингибитор ICP представляет собой антитело, это может быть поликлональная, моноклональная,
15 фрагментная, одноцепочечная или другая вариантная конструкция антитела. Ингибиторы ICP включают, например, антитело против PD-1, антитело против PD-L1, антитело против CTLA4, антитело против LAG-3 и антитело против TIM-3.

Ингибиторы ICP могут быть нацелены на любой компонент ICP, известный
20 в данной области, который приводит к стимуляции иммунной системы, включая, не ограничиваясь перечисленными, CTLA-4, PD-1, PD-L1, PDL2, B7-H3, B7-H4, BTLA, HVEM, TIM3, GAL9, LAG3, CSF-1R, VISTA, KIR, 2B4, CD160, CGEN-15049, CHK1, CHK2, A2aR, ADAR1, TIGIT, CD47, ICOS и семейство лигандов B-7. Могут использоваться комбинации ингибиторов для одного целевого
25 компонента ICP или различных ингибиторов для разных целевых компонентов ICP.

Ингибиторы ICP можно вводить одновременно, до или после фармацевтической композиции в соответствии с настоящим изобретением. Ингибиторы ICP можно вводить любыми подходящими способами, известными
30 в данной области для конкретного ингибитора, что позволяет лечить конкретный рак или инфекционное заболевание. Обычно ингибиторы ICP вводятся системно. Соответствующие способы, известные в данной области для введения ингибиторов ICP, включают, например, внутривенное, пероральное,

внутрибрюшинное, сублингвальное, интратекальное, внутрисполостное, внутримышечное и подкожное введение.

Предпочтительные пути введения одного или нескольких ингибиторов ICР включают внутривенный, внутримышечный, внутрикожный, внутрибрюшинный, подкожный, спинномозговой или другие парентеральные пути введения, например, путем инъекции или инфузии. Термин «парентеральное введение» в контексте настоящего описания относится к способам введения, отличным от энтерального и местного, обычно путем инъекции, и включает, без ограничения, внутривенную, внутримышечную, внутриартериальную, интратекальную, внутрикапсульную, внутриглазничную, внутрисердечную, внутрикожную, внутрибрюшинную, транстрахеальную, подкожную, субкутикулярную, внутрисуставную, субкапсулярную, субарахноидальную, внутриспинальную, эпидуральную и интрастемальную инъекцию и инфузию. В более предпочтительном варианте осуществления настоящего изобретения один или несколько ингибиторов ICР вводят внутривенно. Альтернативно, один или несколько ингибиторов ICР можно вводить непарентеральным путем, например, местным, эпидермальным путем или через слизистые оболочки, например, интраназально, перорально, вагинально, ректально, сублингвально или местно.

Доступные в настоящее время ингибиторы ICР включают антитела, специфичные к CTLA-4, PD-1 и PD-L1. Согласно одному варианту осуществления настоящего изобретения один или несколько ингибиторов ICР выбраны из группы, состоящей из антител, специфичных к CTLA-4, антител, специфичных к PD-1, и антител, специфичных к PD-L1. Моноклональные антитела, которые специфичны и, таким образом, нацелены на PD-1 или PD-L1, могут блокировать связывание между этими двумя компонентами ICР и усиливать иммунный ответ против раковых клеток. Эти препараты показали большие перспективы в лечении ряда типов рака.

Примеры антител, специфичных к PD-1, которые в настоящее время используются в качестве ингибиторов ICР в терапии рака, включают моноклональные антитела пембролизумаб (Keytruda®) и ниволумаб (Opdivo®). Было показано, что эти антитела эффективны при лечении нескольких типов рака, включая меланому кожи, немелкоклеточный рак легких, рак почек, рак мочевого пузыря, рак головы и шеи и лимфому Ходжкина.

Примеры антител, специфичных к PD-L1, которые в настоящее время используются в качестве ингибиторов ИСР при лечении рака, включают моноклональные антитела атезолизумаб (Tecentriq®), авелумаб (Bavencio®) и дурвалумаб (Imfinzi®). Эти антитела также показали свою эффективность при
5 лечении различных типов рака, включая рак мочевого пузыря, немелкоклеточный рак легкого и рак кожи из клеток Меркеля (карцинома из клеток Меркеля).

CTLA-4 представляет собой еще один член семейства B7-CD28, который ингибирует функции Т-клеток. Он конститутивно экспрессируется
10 регуляторными Т-клетками, но также может активироваться другими типами Т-клеток, особенно CD4 + Т-клетками, при активации. CTLA-4 опосредует иммуносупрессию, косвенно уменьшая передачу сигналов через костимуляторный рецептор CD28. Было показано, что передача сигналов CTLA-4 ослабляет иммунный ответ против инфекций и опухолевых клеток (Cugran M.
15 A. и соавт., Proc Natl Acad Sci U S. A. 2 марта 2010 г.; 107 (9): 4275-80).

Примеры антител, специфичных к CTLA-4, которые в настоящее время используются или изучаются в качестве ингибиторов ИСР при терапии рака, включают моноклональные антитела ипилимумаб (Yervoy®) и тремелимумаб (Pfizer) соответственно.

20 Согласно одному варианту осуществления настоящего изобретения один или несколько ингибиторов ИСР представляют собой комбинацию антител, специфичных к PD-1 и/или PD-L1, и антител, специфичных к CTLA-4, предпочтительно комбинацию антител, специфичных к PD-1 или PD-L1, и антител, специфичных к CTLA-4. Согласно другому варианту осуществления
25 настоящего изобретения антитела, специфичные к PD-1, выбраны из группы, состоящей из пембролизумаба и ниволумаба, антитела, специфичные к PD-L1, выбраны из группы, состоящей из атезолизумаба, авелумаба и дурвалумаба, а также антитела, специфичные к CTLA-4, выбраны из группы, состоящей из ипилимумаба и тремелимумаба. Согласно другому варианту осуществления
30 настоящего изобретения пациент, которого лечат композицией в соответствии с изобретением, страдает диареей, колитом или энтероколитом, вызванными ингибитором ИСР, возникшими из-за лечения одним или несколькими ингибиторами ИСР, перечисленными выше.

Для введения антител, специфичных к CTLA-4, PD-1 и PD-L1, например, дозировка находится в диапазоне от примерно 0,0001 до 100 мг/кг, предпочтительно от 0,01 до 5 мг/кг массы тела пациента. Примерные дозировки могут составлять 0,3 мг/кг массы тела, 1 мг/кг массы тела, 3 мг/кг массы тела, 5 мг/кг массы тела или 10 мг/кг массы тела или в диапазоне 1-10 мг/кг массы тела. Антитела обычно вводят несколько раз. Примерный режим дозирования включает введение один раз в неделю, один раз каждые две недели, один раз каждые три недели, один раз каждые четыре недели, один раз в месяц, один раз каждые 3 месяца, один раз каждые три-шесть месяцев или один раз каждые 6 месяцев. Интервалы также могут быть нерегулярными, на что указывает измерение уровня антител к целевому антигену в крови пациента. В некоторых случаях дозировка корректируется для достижения определенной концентрации антител в плазме, например, примерно 1-1000 мкг/мл или примерно 25-300 мкг/мл.

Предпочтительные режимы дозирования для специфических антител CTLA-4, PD-1 или PD-L1 включают, без ограничения, от примерно 1 до 10 мг/кг массы тела посредством внутривенного введения одного антитела или комбинации антител, которые вводят (I) шесть доз каждые четыре недели, затем каждые три месяца; (II) каждые три недели; (III) каждые две недели; или (IV) каждую неделю.

Используемый в данном описании термин «примерно» означает в пределах допустимого диапазона ошибок для конкретного значения, определенного специалистом в данной области техники, который будет частично зависеть от того, как значение измеряется или определяется, то есть от ограничений системы измерения. Например, «примерно» может означать в пределах одного или более чем одного стандартного отклонения в соответствии с практикой в данной области техники. В качестве альтернативы «примерно» может означать диапазон до 20%. Кроме того, особенно в отношении биологических систем или процессов, этот термин может означать диапазон до порядка величины или до 5-кратного значения.

В некоторых случаях два или несколько антител, специфичных к CTLA-4, PD-1 и/или PD-L1, вводятся одновременно, и в этом случае доза каждого вводимого антитела может находиться в пределах диапазонов доз, указанных выше. Если вводится более одного антитела, специфичного к CTLA-4, PD-1 или

PD-L1, они могут иметь различную специфичность связывания с CTLA-4, PD-1 или PD-L1, соответственно.

Альтернативно, антитела, ингибирующие ICP, можно вводить в виде композиции с замедленным высвобождением, и в этом случае требуется менее частое введение. Дозировка и частота варьируются в зависимости от периода полужизни антитела в организме пациента. В общем, человеческие антитела показывают самый продолжительный период полужизни, за ними следуют гуманизированные антитела, химерные антитела и нечеловеческие антитела.

ADAR1 представляет собой фермент, редактирующий РНК, который катализирует гидролитическое дезаминирование аденозина до инозина в двухцепочечной РНК (UniProt No. P55265). Функцию ADAR1 можно ингибировать антителами и их функциональными фрагментами, направленными против ADAR1, или методами подавления экспрессии гена, например, с использованием миРНК.

У пациента, проходящего лечение одним или несколькими ингибиторами ICP, один или несколько ингибиторов ICP могут модулировать иммунный ответ у пациента и/или он может ингибировать рост опухолевых клеток у пациента.

Пациент, которого лечат композицией в соответствии с изобретением, может быть больным раком. В одном варианте осуществления пациент является больным раком и проходит или проходил лечение одним или несколькими ингибиторами ICP, предпочтительно одним или несколькими ингибиторами ICP, перечисленными выше. Предпочтительно больной раком проходит лечение одним или несколькими ингибиторами ICP. Предпочтительно лечение одним или несколькими ингибиторами ICP является системным лечением.

В некоторых вариантах реализации пациент проходит лечение противораковой вакциной. Например, пациент может получить комбинированное лечение ингибитором ICP и противораковой вакциной.

Используемый в данном описании термин «противораковая вакцина» имеет свое общее значение в данной области и относится к композиции, способной вызывать активный иммунитет против, по меньшей мере, одного ракового антигена. Противораковые вакцины обычно содержат источник связанного с раком материала или клеток (антиген), который может быть аутологичным или аллогенным для субъекта, наряду с другими компонентами (например, адъювантами) для дальнейшего стимулирования и усиления иммунного ответа

против антигена. Противораковые вакцины могут приводить к стимуляции иммунной системы субъекта для выработки антител к одному или нескольким специфическим антигенам и/или для выработки Т-клеток-киллеров для атаки раковых клеток, которые имеют эти антигены. Противораковая вакцина может приводить к продуцированию антител или просто к активации определенных клеток, в частности антигенпрезентирующих клеток, Т-лимфоцитов (в частности, Т-CD8+ -клеток) и В-лимфоцитов. Противораковая вакцина может быть композицией для профилактических или терапевтических целей или и того, и другого.

10 Есть несколько типов противораковых вакцин. Неограничивающие примеры противораковых вакцин включают вакцины против опухолевых клеток, антигенные вакцины, вакцины на дендритных клетках, ДНК-вакцины и вакцины на основе векторов.

15 Обычно противораковая вакцина в соответствии с настоящим изобретением содержит ассоциированный с опухолью антиген или последовательность нуклеиновой кислоты (например, ДНК), которая кодирует ассоциированный с опухолью антиген. В данной области известны многочисленные антигены, ассоциированные с опухолью. Примеры антигенов, ассоциированных с опухолью, включают, но не ограничиваются ими, 5-альфа-редуктазу, альфа-фетопротейн, AM-1, APC, April, BAGE, бета-катенин, Bell 2, bcr-abl, CA-125, CASP-8/FLICE, катепсины, CD 19, CD20, CD21, CD23, CD22, CD33, CD35, CD44, CD45, CD46, CD5, CD52, CD55, CD59, CDC27, CDK4, CEA, c-мус, Cox-2, DCC, DcR3, E6/E7, CGFR, EMBP, Dna78, фарнезилтрансферазу, FGF8b, FGF8a, FLK-1/KDR, рецептор фолиевой кислоты, G250, семейство GAGE, гастрин 17, 20 гормон высвобождения гастрина, GD2/ GD3/ GM2, GnRH, GnTV , GP1, hCG, гепараназу, Her2/neu, HMTV, Hsp70, hTERT, IGFR1, IL-13R, iNOS, Ki67, KIAA0205, K-ras, H-ras, N-ras, KSA, LKLR-FUT, семейство MAGE, маммаглобин, MAP 17, мелан-А/ MART-1, мезотелин, MIC AB, MT-MMP, муцин, NY-ESO-1, остеонектин, P170/ MDR1, p53, p97/меланотрансферрин, PAI- 30 1, PDGF, uPA , PRAME, пробазин, прогенипоентин, PSA, PSM, RAGE-1, Rb, RCAS1, SART-1, семейство SSX, STAT3, STn, TAG-72, TGF-альфа, TGF-бета, тимозин-бета-15, TNF-альфа, TYRP-, TYRP-2, тирозиназу, VEGF и глутатион-S-трансферазу.

В некоторых вариантах реализации вакцина представляет собой ДНК-вакцину. Векторы могут быть сконструированы так, чтобы они содержали специфические ДНК, которые можно вводить субъекту, что приводит к тому, что ДНК поглощается клетками. Как только клетки захватят ДНК, эта ДНК запрограммирует клетки на выработку определенных антигенов, которые затем могут спровоцировать желаемый иммунный ответ.

В некоторых вариантах реализации вакцина состоит из рекомбинантного вируса, который кодирует или экспрессирует раковый антиген. В некоторых вариантах реализации рекомбинантный вирус представляет собой поксвирус, экспрессирующий опухолевый антиген, и более конкретно ортопоксвирус, такой как, помимо прочего, вирус осповакцины, модифицированный вирус осповакцины Анкара (MVA) или MVA-BN.

В некоторых вариантах осуществления композиция вакцины содержит по меньшей мере одну популяцию антигенпрезентирующих клеток, которые представляют выбранный антиген. Антигенпрезентирующая клетка (или клетка-стимулятор) обычно имеет молекулу МНС класса I или II на своей поверхности, и в одном варианте осуществления она по сути неспособна сама загружать молекулу МНС класса I или II выбранным антигеном. Предпочтительно антигенпрезентирующие клетки представляют собой дендритные клетки. Соответственно, дендритные клетки представляют собой аутологичные дендритные клетки, в которые вводят представляющий интерес антиген (например, пептид). Т-клеточная терапия с использованием аутологичных дендритных клеток, в которые вводят пептиды из антигена, ассоциированного с опухолью, описана в Murphy и соавт. (1996) *The Prostate* 29, 371-380 и Tjua и соавт. (1997) *The Prostate* 32, 272-278. Таким образом, в некоторых вариантах осуществления в композицию вакцины, содержащую по меньшей мере одну антигенпрезентирующую клетку, вводят или загружают один или несколько антигенных пептидов. В качестве альтернативы антигенпрезентирующая клетка содержит экспрессионную конструкцию, кодирующую антигенный пептид. Полинуклеотид может быть любым подходящим полинуклеотидом, и предпочтительно, чтобы он был способен трансдуцировать дендритную клетку, таким образом приводя к презентации пептида и индукции иммунного ответа.

В некоторых вариантах реализации композиция вакцины включает один или несколько адъювантов. Адъюванты представляют собой вещества, которые

неспецифически усиливают или стимулируют иммунный ответ (например, иммунные ответы, опосредованные CD8-положительными Т-клетками и хелперными Т-клетками, на антиген, и, таким образом, могут считаться полезными в лекарственном средстве в соответствии с настоящим изобретением.

5 В конкретном варианте осуществления пациент представляет собой больного раком, страдающего раком, выбранным из группы, состоящей из таких как: меланома; лимфома, такая как классическая лимфома Ходжкина; глиома; уротелиальная карцинома; рак почек; плоскоклеточный рак головы и шеи; рак простаты; рак молочной железы; рак толстой кишки; и рак легких; и их
10 комбинации. В другом конкретном варианте осуществления рак выбран из группы, состоящей из таких как: рак кости, рак поджелудочной железы, рак кожи, рак головы или шеи, кожная или внутриглазная злокачественная меланома, рак матки, рак яичников, рак прямой кишки, рак анальной области, рак желудка, рак яичек, рак матки, карцинома маточных труб, карцинома
15 эндометрия, карцинома шейки матки, карцинома влагалища, карцинома вульвы, болезнь Ходжкина, неходжкинская лимфома, рак пищевода, рак тонкой кишки, рак эндокринной системы, рак щитовидной железы, рак парашитовидной железы, рак надпочечников, саркома мягких тканей, рак уретры, рак полового члена, хронический или острый лейкоз, острый миелоидный лейкоз,
20 хронический миелоидный лейкоз, острый лимфобластный лейкоз, хронический лимфоцитарный лейкоз, солидные опухоли детского возраста, лимфоцитарная лимфома, рак мочевого пузыря, рак почки или мочеточника, карцинома почечной лоханки, новообразование центральной нервной системы (ЦНС), первичная лимфома ЦНС, опухолевый ангиогенез, опухоль оси позвоночника, глиома ствола головного мозга, аденома гипофиза, саркома Капоши,
25 эпидермоидный рак, плоскоклеточный рак, Т-клеточная лимфома, раковые образования, вызванные воздействием окружающей среды, включая рак, вызванный асбестом, и комбинации указанных видов рака.

Согласно настоящему изобретению композиции в соответствии с
30 изобретением могут быть в любой форме, которая при введении позволяет проводить местное лечение в просвете подвздошной кишки и/или толстого кишечника пациента. Композиция может быть твердой дозированной формой в форме пилюли, гранул, микрочастиц, наночастиц, мини-таблеток, капсул или таблеток и т.п. В данной области техники известно, как производить твердые

лекарственные формы, например, можно сделать ссылку на "Aulton's
Pharmaceutics: The Design and Manufacture of Medicines", Churchill Livingstone
title, 4-е пересмотренное издание, 2013 г. (ISBN: 978-0-7020-4290-4).

Конкретный пример способов получения твердых дозированных форм,
5 содержащих антитела и функциональные фрагменты или производные, включает
те, которые описаны в любой из международных патентных заявок
PCT/EP2018/074521, PCT/EP2018/074520 и PCT/EP2018/074524.

Согласно одному варианту осуществления композиции в соответствии с
изобретением содержат по меньшей мере одну добавку. Подходящие добавки
10 включают гидрофильные полимеры, наполнители, гидрофильные связующие,
разрыхлители, агенты, препятствующие слипанию, поверхностно-активные
вещества, стабилизаторы, усилители устойчивости к протеазам,
пластификаторы, агенты коалесценции, смазки, буферные агенты, подкислители
и/или комплексообразующие агенты. Подходящие гидрофильные полимеры,
15 наполнители, гидрофильные связующие, разрыхлители, вещества,
препятствующие слипанию, поверхностно-активные вещества, пластификаторы,
агенты коалесценции, смазки, буферные агенты и/или подкислители известны
специалистам в данной области.

В одном варианте осуществления настоящего изобретения композицию для
20 местного лечения в подвздошной кишке и/или толстом кишечнике вводят
перорально. Пероральное введение в контексте настоящего изобретения
означает введение композиции в желудочно-кишечный тракт через рот. В
предпочтительном варианте осуществления настоящего изобретения композиция
представляет собой твердую лекарственную форму, предпочтительно в форме
25 пилюли, гранулы, микрочастицы, наночастицы, мини-таблетки, сферы, капсулы,
таблетки или системы доставки лекарственного средства из множества частиц с
покрытием с отсроченным высвобождением. Используемый в данном описании
термин «отсроченное высвобождение» означает, что предотвращается
высвобождение антитела или его функционального фрагмента или производного
30 до подвздошной кишки, до концевой отдела подвздошной кишки, до
тонкотолстокишечной области или до толстого кишечника.
Тонкотолстокишечная область представляет собой область желудочно-
кишечного тракта, где тонкий кишечник сливается с толстым кишечником, то
есть с терминальным отделом подвздошной кишки. В другом варианте

осуществления композиция представляет собой твердую лекарственную форму с отсроченным высвобождением, предпочтительно в форме пилюли, гранулы, микрочастицы, наночастицы, мини-таблетки, сферы, капсулы, таблетки или системы доставки лекарственного средства из множества частиц, которая

5 включает покрытие с замедленным высвобождением или матрицу замедленного высвобождения. Как правило, термин «замедленное высвобождение» в контексте настоящего описания относится к высвобождению, зависящему от времени, т.е. антители, или его функциональный фрагмент, или производное высвобождается в течение длительного периода времени, например, в течение по крайней мере 6

10 часов, предпочтительно по крайней мере 8 часов, по крайней мере 10 часов, по крайней мере 12 часов, по крайней мере 14 часов, по крайней мере 16 часов, по крайней мере 18 часов, по крайней мере 24 часов и т. д.

В предпочтительном варианте осуществления композиция включает ядро с замедленным высвобождением и покрытие с отсроченным высвобождением. В

15 этом варианте осуществления композиция обычно не содержит покрытия с замедленным высвобождением.

Предпочтительно ядро с замедленным высвобождением содержит по меньшей мере один агент с замедленным высвобождением, выбранный из группы, состоящей из таких как: неионные полимеры поли(этиленоксида) с

20 молекулярной массой от 100000 до 7000000, типа НРМС 2208 с вязкостью 2 мас.% в воде при температуре 20°C от 3 до 100000 мПа·с, предпочтительно примерно от 2308 до 9030 мПа·с, более предпочтительно 2663-4970 мПа·с, ксантановая камедь, гуаровая камедь, трагакантовая камедь, камедь рожкового дерева, камедь акации, хитозан, карбомеры, этилцеллюлоза, поливинилацетат,

25 глицерил (ди)бегенат, глицерилпальмитостеарат, полиметакрилаты, такие как поли(этилакрилат, метилметакрилат, триметиламмониетилметакрилат хлорид) 1: 2: 0,1, поли(этилакрилат, метилметакрилат, триметиламмониетил метакрилат хлорид) 1: 2: 0,2, или поли(этилакрилат, метилметакрилат) 2: 1 и их комбинации.

В другом предпочтительном варианте осуществления композиция включает

30 ядро с немедленным высвобождением, покрытие с замедленным высвобождением и покрытие с отсроченным высвобождением. Обычно покрытие с замедленным высвобождением находится между ядром и покрытием с отсроченным высвобождением.

В еще одном варианте осуществления композиция включает ядро с немедленным высвобождением и покрытие с отсроченным высвобождением, но без покрытия с замедленным высвобождением.

Материалы покрытия для отсроченного высвобождения твердой лекарственной формы, в частности для целевого высвобождения в подвздошной кишке или толстом кишечнике, при пероральном введении известны в данной области. Их можно подразделить на материалы покрытия, которые распадаются при превышении определенного значения pH, материалы покрытия, которые распадаются после определенного времени пребывания в желудочно-кишечном тракте, и материалы покрытия, которые распадаются благодаря ферментным триггерам, специфичным для микрофлоры определенной области кишечника. Материалы покрытия этих трех различных категорий для нацеливания на толстый кишечник были рассмотрены, например, в Bansal и соавт. (Polim. Med. 2014, 44, 2, 109-118). Такое использование таких материалов покрытия также описано, например, в WO 2007/122374 A2, WO 01/76562 A1, WO 03/068196 A1, WO 2008/135090 A1 и GB 2367002 A. В одном варианте осуществления настоящего изобретения покрытие с отсроченным высвобождением содержит по меньшей мере один компонент, выбранный из материалов покрытия, которые распадаются в зависимости от pH, материалов покрытия, которые распадаются в зависимости от времени, материалов покрытия, которые распадаются благодаря ферментативным триггерам в среде толстого кишечника, и их комбинаций.

Предпочтительные материалы покрытия среди материалов покрытия, которые разлагаются в зависимости от pH, выбирают из поливинилацетатфталата, тримеллитата ацетата целлюлозы, фталата гидроксипропилметилцеллюлозы HP-50, HP-55 или HP-55S, ацетатфталата целлюлозы, сукцината ацетата гидроксипропилметилцеллюлозы (HPMCAS), поли(метакриловая кислота, этилакрилат) 1: 1 (Eudragit® L100-55, Eudragit® L30D-55), поли(метакриловая кислота, метилметакрилат) 1: 1 (Eudragit® L-100, Eudragit® L12.5), поли(метакриловая кислота, метилметакрилат) 1: 2 (Eudragit® S-100, Eudragit® S12,5, Eudragit® FS30D) и их комбинаций. Предпочтительными материалами покрытия среди материалов покрытия, которые распадаются в зависимости от времени, являются выбранный поли(этилакрилат, метилметакрилат) 2: 1 (например, Eudragit® NM 30D или Eudragit NE 30D); поли(этилакрилат, метилметакрилат, триметиламмониоэтилметакрилат хлорид)

1: 2: 0,1 (например, Eudragit® RS 30D); этилцеллюлоза (например, Surelease® или Aquascoat ECD); поли(этилакрилат, метилметакрилат, триметиламмониетилметакрилат хлорид) 1: 2: 0,2 (например, Eudragit® RL 30D); поливинилацетат (например, Kollicoat® SR 30D); и их комбинации.

5 Предпочтительные материалы покрытия среди материалов покрытия, которые распадаются благодаря ферментативным триггерам в среде толстого кишечника, выбирают из таких как: хондроитинсульфат, пектин, гуаровая камедь, хитозан, инулин, лактулоза, рафиноза, стахиоза, альгинат, декстран, ксантановая камедь, камедь плодов рожкового дерева, арабиногалактан. циклодекстрин, пуллулан, 10 каррагинан, склероглюкан, хитин, курдулан, леван, амилопектин, крахмал, амилоза, стойкий крахмал, азосоединения, разлагаемые бактериями, расщепляющими азосвязи, и их комбинации. Покрытие с отсроченным высвобождением необязательно содержит один или несколько дополнительных наполнителей.

15 В одном варианте осуществления настоящего изобретения материал покрытия для покрытия с отсроченным высвобождением включает один, два, три и т. д. компонент(ов), выбранный(ых) из материалов покрытия, которые разлагаются в зависимости от pH, материалов покрытия, которые разлагаются в зависимости от времени, и материалов покрытия, которые распадаются 20 благодаря ферментативным триггерам в кишечной среде, перечисленных выше, и их комбинаций. В другом варианте осуществления настоящего изобретения покрытие с отсроченным высвобождением включает комбинацию по меньшей мере одного материала покрытия, который распадается в зависимости от pH, и по меньшей мере одного материала покрытия, который распадается благодаря 25 ферментативным триггерам в кишечной среде.

Например, покрытие с отсроченным высвобождением может быть разработано таким образом, чтобы направить доставку композиции, содержащей антитело или его функциональный фрагмент или производное, полностью в толстый кишечник, начиная со слепой кишки и продолжая через восходящую, 30 поперечную и нисходящую ободочную кишку, и заканчивая сигмовидной кишкой. В качестве альтернативы, например, покрытие с отсроченным высвобождением может быть разработано для начала доставки антитела или его функционального фрагмента или его производного в подвздошную кишку и

прекращения высвобождения в поперечной ободочной кишке. Возможности и комбинации многочисленны.

В другом варианте осуществления настоящего изобретения композицию для местного лечения в подвздошной кишке и/или толстом кишечнике вводят ректально. Ректальное введение в контексте настоящего изобретения означает введение композиции в желудочно-кишечный тракт через задний проход. В предпочтительном варианте осуществления настоящего изобретения композиция используется в форме клизмы, геля, пены или суппозитория.

Специалист, квалифицированный в данной области, может легко определить эффективное количество TNF α -специфического антитела или его функционального фрагмента или производного, которое должно быть введено как часть композиции для применения в соответствии с настоящим изобретением. Как правило, эффективное количество антитела, специфичного к TNF α , или его функционального фрагмента, или его производного согласно изобретению является наименьшим количеством, необходимым для получения терапевтического эффекта, то есть для лечения диареи, колита или энтероколита, вызванных одним или несколькими ингибиторами ICP. Точное количество TNF α -специфического антитела или его функционального фрагмента или производного, которое должно быть введено пациенту, может варьироваться в зависимости от состояния и тяжести нарушения и физического состояния пациента.

Согласно одному варианту осуществления настоящего изобретения композиция в соответствии с изобретением обеспечивает терапевтически эффективную дозу специфического антитела TNF α или его функционального фрагмента или производного в просвет подвздошной кишки и/или толстого кишечника пациента для предотвращения, минимизации и/или задержки или облегчения симптомов, связанных с диареей, колитом или энтероколитом, вызванных ингибитором ICP. «Терапевтически эффективная доза» представляет собой количество по меньшей мере одного антитела, специфичного к TNF α , или его функционального фрагмента или производного, необходимое для обеспечения желаемого терапевтического эффекта. Точное количество может варьироваться для различных антител или их функциональных фрагментов или производных и/или для отдельных пациентов, но может быть определено специалистом в данной области.

Терапевтическая эффективная доза в просвете подвздошной кишки и/или толстого кишечника может быть достигнута, например, посредством нацеливания композиции в соответствии с изобретением, содержащей антитела против TNF α , или их функциональные фрагменты или производные. Путь и средства нацеливания композиции в соответствии с изобретением в просвет подвздошной кишки и толстого кишечника особо не ограничиваются и могут быть достигнуты способами, известными в данной области. Сюда входит использование врожденных процессов желудочно-кишечного тракта, которые, например, имеют различия в рН и микрофлоре и удельном времени пребывания проглоченных материалов в разных отделах желудочно-кишечного тракта. Способы отбора проб специфических белков, включая специфические антитела в просвете кишечника, известны в данной области. Образцы могут быть взяты, например, из выделенных фекалий или с помощью гибкой трубки, вводимой через задний проход. Затем можно определить концентрацию антитела против TNF α , используя ELISA, вестерн-блоттинг или другие иммунохимические методы, аналогично тому, что было описано для измерения концентрации TNF α в фекалиях у Nicholls и соавт. (J Clin Pathol. 1993 Aug; 46 (8): 757-760) с использованием в композиции антитела, специфичного к анти-TNF антителу, или его функционального фрагмента или производного.

Одна стандартная доза композиции в соответствии с настоящим изобретением может содержать, например, количество активного агента в диапазоне от примерно 0,05 мг до примерно 1000 мг, от 0,1 мг до примерно 200 мг, или от примерно 1 мг до примерно 100 мг, или от примерно 10 мг до примерно 50 мг.

Композиции, содержащие специфическое анти-TNF α антитело или его функциональный фрагмент или производное, согласно изобретению, можно вводить пациенту, например, один раз в день, два раза в день или три раза в день. В предпочтительном варианте осуществления композиция вводится один раз в день.

SEQ ID NO:	Описание аминокислотной последовательности
1	Легкая цепь гуманизированного анти-TNF α антитела (= легкая цепь Ab-REW)
2	Тяжелая цепь гуманизированного анти-TNF α антитела
3	CDR L1 антитела Ab-REW
4	CDR L2 антитела Ab-REW
5	CDR L3 антитела Ab-REW

SEQ ID NO:	Описание аминокислотной последовательности
6	CDR H1 антитела Ab-REW
7	CDR H2 антитела Ab-REW
8	CDR H3 антитела Ab-REW
9	V _H антитела Ab-REW
10	V _L антитела Ab-REW
11	Тяжелая цепь антитела Ab-REW
12	Легкая цепь суррогатного антитела cV1q-huFc
13	Тяжелая цепь суррогатного антитела cV1q-huFc
14	Модифицированная тяжелая цепь антитела Ab-REW
15	Тяжелая цепь антитела Ab-AA
16	Модифицированная тяжелая цепь антитела Ab-AA

ПРИМЕРЫ

Примеры 1 и 2

Материалы и способы, применяемые в примерах

5

Приготовление буфера цитрат-ТРИС с pH 7: готовили 100 мМ раствор цитрата натрия (2,942 г доводили до 100,0 мл очищенной водой). Готовили 100 мМ раствор лимонной кислоты (3,842 г растворенных и разбавленных до 200,0 мл очищенной водой). pH раствора лимонной кислоты доводили до 3,5 раствором цитрата натрия. Готовили 1М раствор ТРИС (12,114 г доводили до 100,0 мл очищенной водой). pH цитратного буфера доводили до pH 7,0 с помощью раствора TRIS.

10

Приготовление пилюль

15

Состав композиции (ядро пилюль)

Пример 1 (ядро пилюль немедленного высвобождения) –		Пример 2 (ядро пилюль с замедленным высвобождением)	
Микрокристаллическая целлюлоза	50% *	Микрокристаллическая целлюлоза	75% *
Сорбитол	45% *	Compritol 888 АТО	10% *
Натрия глюконат крахмала	5% *	Сорбитол	15% *
Адалимуаб	0,82% (полученная загрузка)	Адалимуаб	1,08% (полученная загрузка)

* сухой смеси перед добавлением адалимуаба

Этапы изготовления:

Сухое перемешивание: наполнители, необходимые для каждой партии (размер партии: 10 г), смешивали с использованием насадки для миксера (смеситель с двумя лопастями) оборудования Caleva Multilab в течение приблизительно 5 минут заданного периода времени при 50 об./мин.

5 *Влажное перемешивание*: после стадии сухого перемешивания раствор адалимумаба, содержащий 0,1% мас./об. полисорбата 20, медленно добавляли к порошковой смеси наполнителей при перемешивании и перемешивали в течение 10 минут при 50 об./мин.

10 *Экструзия*: Влажную массу затем вылили из смесителя и экструдировали через отверстия диаметром 1 мм и глубиной 1 мм в экструзионной головке с использованием шнекового экструдера с постоянной скоростью (150 об./мин.) до тех пор, пока вся влажная масса не будет экструдирована.

15 *Сферонизация*: влажный экструдат затем подавали в насадку сферонизатора, состоящую из рифленной пластины, которая путем вращения разбивает влажные экструдаты на более мелкие фрагменты, которые в зависимости от времени, скорости и характера отдельных компонентов экструдата, затем становятся круглыми (влажными сфероиды). Экструдат сферонизировали в течение заданного времени при 1500 об./мин.

20 Затем влажные пилюли, полученные на стадии сферонизации, собирали в одноразовую лодочку для взвешивания и сушили в течение ночи при 40°C в сушильном шкафу.

Покрытие с отсроченным (энтеросолюбильным) высвобождением

25 Пилюли, содержащие адалимумаб (из примеров 1 и 2), были покрыты энтеросолюбильным покрытием, содержащим Eudragit L30D-55. Суспензию для покрытия готовили путем смешивания необходимого количества дисперсии Eudragit L30D-55 с эмульсией моностеарата глицерина (GMS). Эмульсию GMS получали растворением полисорбата 80 в воде с последующим добавлением GMS. Затем смесь нагревали до 75°C и выдерживали при этой температуре в течение 15 минут при непрерывном перемешивании магнитной мешалкой. Затем
30 к Eudragit L30D-55 добавляли охлажденную эмульсию GMS с последующим добавлением триэтилцитрата (пластификатор). Суспензию перед нанесением покрытия перемешивают 30 минут.

Суспензию покрытия затем распыляли на пилюли, содержащие адалимумаб, для достижения целевого увеличения массы полимера на 30%.

Покрытие наносили с использованием устройства для нанесения покрытия в псевдоожигенном слое MiniGlatt (нижний распылитель), снабженного микронабором, позволяющим наносить покрытия на партии небольшого размера. Суспензию Eudragit L30D-55 распыляли при температуре на входе 40°C, температуре продукта 33,0–34,5°C, расходе воздуха 24–28 м³/ч и давлении воздуха распыления 0,2–0,3 бар.

Растворение адалимумаба из пилуль

Некоторое количество пилуль, содержащих адалимумаб, помещали в криопробирку на 5 мл и добавляли 4,0 мл буфера, чтобы получить номинальную концентрацию адалимумаба 1 мг/мл, исходя из теоретически рассчитанной загрузки адалимумаба. В качестве буфера использовали цитрат-ТРИС буфер pH 7. Образцы перемешивали в течение всего эксперимента. Образцы супернатанта отбирали в заранее определенные моменты времени, центрифугировали и супернатант анализировали с точки зрения общего содержания белка. В случае пилуль с энтеросолюбильным покрытием пилули сначала подвергали действию 0,1 н. HCl в течение 2 часов при непрерывном перемешивании, затем эту жидкость удаляли, а затем добавляли цитрат-ТРИС буфер pH 7,0 для буферной стадии, которая выполнялась, как описано ранее.

Количественное определение содержания общего белка (Бредфорда).

Количественное определение общего белка проводили колориметрическим методом, следуя способу Бредфорда, с помощью реагента Coomassie Plus (Thermo Fisher Scientific). Вкратце, 6,6 мкл образца переносили пипеткой на дно 96-луночного планшета, добавляли 200 мкл реагента Coomassie Plus и перемешивали встряхиванием в течение 30 с при 500 об./мин. Затем образцы инкубировали при комнатной температуре в течение 10 минут, после чего регистрировали оптическую плотность при 595 нм (считывающее устройство для планшетов Tecan) и вычитали оптическую плотность холостой пробы. Количественный анализ проводили с использованием свежеприготовленной стандартной кривой.

30 Результаты

Высвобождение адалимумаба из ядер пилуль с немедленным и замедленным высвобождением

Пилули Примера 1 без покрытия быстро распадались в буфере цитрат-ТРИС pH 7,0, что приводило к быстрому и почти полному высвобождению

адалимумаба в течение 1 часа. С другой стороны, высвобождение адалимумаба из пилюль без покрытия в Примере 2 поддерживалось на протяжении всего эксперимента.

	Время (ч)	1	2	4	8	24
% Высвобождение адалимумаба	Пример 1 (непокрытые пилюли)	85,2	89,7			91,43
	Пример 2 (непокрытые пилюли)	25,8	34,0	44,0	53,1	61,5

5 Высвобождение адалимумаба из ядер пилюль с отсроченным (энтеросолюбильным) высвобождением

Обе партии пилюль адалимумаба были покрыты дисперсией Eudragit L30D-55. После 2 часов в 0,1 н. HCl пилюли с покрытием были полностью кислотоустойчивыми (без высвобождения адалимумаба). После замены на буфер цитрат-ТРИС pH 7,0 (для моделирования pH просвета тонкого кишечника) началось высвобождение адалимумаба (высвобождение $\geq 5\%$).

Пример 3

Терапевтическая эффективность анти-TNF α антитела после местного введения была исследована на мышинной модели IBD. Из-за видовой специфичности Ab-REW, которое не связывается с TNF α мыши, использовали суррогатное антитело (cV1q), состоящее из переменного домена антитела cV1q (Echtenacher и соавт., 1990) в сочетании с константной областью IgG2a мыши. Модель переноса Т-клеток была выбрана в качестве модели экспрессии генов в этой модели, наиболее точно отражающей измененную экспрессию генов в IBD (по сравнению с колитом, вызванным DSS и TNBS) (Velde и соавт., Inflamm Bowel Dis 2007; 13 (3): 325-30). Эта модель клинически характеризуется прогрессирующей потерей веса тела и мягким стулом. Что касается гистопатологии, воспаление распространяется от слепой кишки до прямой кишки с инфильтрацией макрофагов, сопровождаемой умеренным количеством активированных лимфоцитов CD4⁺, истощением муцина и эпителиальной гиперплазией, приводящей к удлинению желез и утолщению слизистой оболочки. Описана повышенная экспрессия генов TNF- α , IFN- γ , IL-6, CCR1,

CCR2, CCR5, хемокинового рецептора 3 CXС и их лигандов (Nagaoka и Radi, Front Biosci 1 июня 2012 г.; 4: 1295-314).

Колит был вызван адаптивной передачей наивных CD4⁺ Т-клеток от мышей WT мышам с иммунодефицитом, вызывая трансмуральный колит у реципиентов. Вкратце, Т-клетки (CD44⁺ / CD62L⁺) собирали и очищали от наивных C57BL/6 мышей и $0,5 \times 10^6$ клеток вводили внутрибрюшинно мышам RAG2^{-/-}. Приживление Т-клеток подтвердили на 20 день.

Для лечения использовали химерное моноклональное антитело крысы/мыши изотипа IgG2a (мышиный гомолог человеческого IgG1), специфичного к TNF α мыши (Echtenacher и соавт., J Immunol 1990; 145: 3762-66).

Мышей разделили на 4 группы (для наивных мышей n = 5; для всех остальных групп n = 12) следующим образом:

Группа 1 - наивные мыши.

Группа 2 получала носитель внутриванально.

Группа 3 получала IgG2a внутриванально.

Группа 4 получала IgG2a внутрибрюшинно в качестве положительного контроля.

Лечение анти-TNF α начинали на 21 день после переноса Т-клеток, когда у животных развился колит, и продолжали в течение 28 дней. Животных, получавших ректальное введение (300 мкг/день IgG2a или 200 мкл носителя), лечили ежедневно, тогда как животных, которым вводили внутрибрюшинно IgG2a, лечили дважды в неделю. Конечными точками были масса тела, эндоскопический индекс (дни 14–49), гистологический индекс (день 49) и цитокины в толстой кишке (день 49).

Результаты:

Мыши в наивной группе и в группе, которую лечили препаратом IgG2a (в.б., в.р.), сохраняли или продолжали набирать вес, в то время как животные в группе, получавшей носитель, неуклонно теряли вес (Фигура 1).

Значительное снижение эндоскопических индексов и уменьшение гистологических индексов наблюдалось в группах, получавших IgG2a (в.б., в.р.); см. Фигуры 2 и 3. Во время эндоскопии колит оценивался по шкале от 0 до 4 (0: норма; 1: потеря кровоснабжения; 2: потеря кровоснабжения и рыхлость; 3:

рыхлость и эрозии; 4: изъязвления и кровотечение). Общий гистологический индекс представляет собой сумму индивидуальных баллов (0–4 каждый) для воспаления, отека, истощения бокаловидных клеток и повреждения эпителия.

5 Внутривентриальное введение IgG2a привело к наибольшему снижению цитокинов в толстой кишке с последующим внутривентриальным введением IgG2a. См. Фигуру 4. Приведенные значения являются средними значениями данных для проксимального, среднего и дистального отделов толстой кишки.

10 Подводя итог, можно сказать, что местное лечение работает в модели переноса Т-клеток у мышей, о чем свидетельствует значительно уменьшенный эндоскопический индекс, гистологический индекс, уменьшение цитокинов в толстой кишке и меньшая потеря веса тела.

Пример 4

15 **Исследование доза-ответ при лечении колита на модели колита у мышей**

В исследовании доза-ответ терапевтически эффективная доза ректально вводимого суррогатного антитела cV1q-huFc оценивалась на мышинной модели IBD с переносом Т-клеток с использованием мышей Tg32-SCID (трансгенных мышей FcRn человека). Из-за видовой специфичности Ab-REW, которое не
20 связывается с TNF α мыши, использовали суррогатное антитело (cV1q-huFc), состоящее из переменного домена антитела cV1q (Echtenacher и соавт., 1990) и константного домена Ab-REW. Последовательности легкой и тяжелой цепей суррогатного антитела показаны в SEQ ID NO: 12 и 13 соответственно. Колит был вызван адоптивным переносом наивных CD4⁺ Т-клеток от C57Bl/6 мышей
25 Tg32-SCID мышам. Лечение cV1q-huFc начиналось на 14-й день после адоптивного переноса и продолжалось до 42-го дня. Мыши получали либо ежедневные внутривентриальные введения cV1q-huFc (10, 30, 100 и 300 мкг/мышь), либо ежедневные интрацекальные введения (300 мкг/мышь) либо два
30 раза в неделю внутривентриальную инъекцию 10 мг/кг (контроль). После ректального лечения наблюдалось дозозависимое улучшение общего гистологического индекса, включающего воспаление толстой кишки (подслизистое и мышечное/серозное), повреждение крипт, эрозию, гиперплазию и отек, в проксимальном и дистальном отделах толстой кишки (Фигура 5). Также интрацекальное лечение привело к снижению гистологического индекса. Кроме

того, снижение содержания цитокинов в толстой кишке IL-6, IL-17A, KC, TNF α и MIP-2 наблюдалось как после ректального, так и после интрацекального введения (Фигура 6). Это было значительным в случае IL-17A, KC и MIP-2 после интрацекального введения. Таким образом, местное введение ингибитора TNF α приводит к уменьшению воспаления в толстой кишке.

Пример 5

Системное воздействие после ректального введения

Исследование проводилось на здоровых мышах и мышах, страдающих колитом, для определения системного воздействия cV1q-huFc после ректального введения. Колит был вызван воздействием на мышей Tg32-SCID питьевой воды, обработанной 3% DSS, с 0 по 5 день. Здоровым и больным мышам ректально вводили однократную дозу (SD) или несколько доз (MD; 0,1 или 0,3 мг) cV1q-huFc. Из-за ограничений при сборе крови у каждой мыши можно было взять только три образца крови (левый глаз, правый глаз, терминальный). Таким образом, каждая группа лечения (n = 10-14 мышей) была разделена на две подгруппы (n = 5-7 мышей) для сбора крови. Животные, которым вводили однократную дозу, получали антитело cV1q-huFc на 10 день, когда колит был установлен, и образцы крови собирали через 1, 4 и 24 часа (подгруппа 1) и через 2, 8 и 48 часов (подгруппа 2) после введения дозы. Мышам, получавшим несколько доз cV1q-huFc, ежедневно вводили ректально с 10 по 14 день, и образцы крови собирали через 24, 72 и 120 часов (подгруппа 1) и через 48, 96 и 144 часа (подгруппа 2) после первой дозы cV1q-huFc на 10-й день, всегда непосредственно перед введением следующей дозы. Параллельно двум группам (здоровым и больным) вводили однократную внутривенную инъекцию cV1q-huFc в дозе 5 мг/кг. Образцы крови собирали, как у мышей, подвергнутых ректальному лечению, получавших однократную дозу. Образцы плазмы анализировали с помощью Impregacer® Immuno-PCR.

Системное воздействие после ректального введения было очень низким по сравнению с внутривенным введением (Фигура 7). Оно было немного, но не значительно выше у животных, страдающих колитом, по сравнению со здоровыми животными. Однократная доза ректально введенного cV1q-huFc привела к расчетной системной биодоступности <0,01%, если сравнивать

нормированные по дозе воздействия (AUC). Системного накопления с течением времени после 5 ежедневных доз не наблюдалось.

Пример 6

5 **Системное воздействие и концентрация в тканях после интрацекального введения**

Концентрации cV1q-huFc в тканях, а также системное воздействие определяли у здоровых мышей и мышей, страдающих колитом, после интрацекального введения. Самцам мышей Tg32-SCID была проведена операция, при которой канюля была помещена от слепой кишки к спине между лопатками, обнажая кончик канюли, который был закреплен на месте с помощью шва, зажимов для ран и тканевого клея. Животные получали бупренорфин (в течение 3 дней) и байтрил (в течение 5 дней) после операции, и им позволяли восстановиться в течение 2-4 недель перед включением в исследование. Колит вызывали воздействием на мышей питьевой воды, обработанной 3% DSS, с 0 по 5 день. Здоровым и больным мышам вводили однократную дозу (n = 16 на группу) или несколько доз (n = 8 на группу) cV1q-huFc. Здоровые мыши получали дозу 0,3 мг/введение, в то время как два уровня доз (0,1 и 0,3 мг/введение) тестировали на мышах с колитом. При дозировании животным вводили 0,1 мл cV1q-huFc через канюлю, которую затем промывали 0,05 мл физиологического раствора, чтобы избежать того, чтобы какое-либо лекарственное вещество оставалось в канюле и не достигало слепой кишки. В каждый момент времени умерщвляли четырех мышей и собирали толстую кишку и кровь (плазму). Животным, которым вводили однократную дозу, вводили антитело cV1q-huFc на 10 день, когда колит был установлен, и животных умерщвляли через 1, 4, 8 и 12 часов после введения дозы. Мыши, получавшие многократные дозы cV1q-huFc, получали ежедневные интрацекальные введения с 10 по 14 день и были умерщвлены через 24 и 120 часов после первой дозы cV1q-huFc на 10 день. Параллельно две группы с вызванным колитом получали однократное или многократное ректальное введение cV1q-huFc в дозе 0,3 мг/применение. Образцы крови (плазмы) отбирали так же, как и у животных, подвергнутых интрацекальной обработке. Образцы плазмы анализировали с помощью Imperacer® Immuno-PCR. Толстую кишку вырезали при умерщвлении, промывали, взвешивали и обрезали до 5 см в длину. Кусок длиной 1 см как от

проксимального, так и от дистального концов, быстро замораживали для анализа с помощью ELISA.

Измеренные концентрации в плазме сильно варьировались после интрацекального введения, как это уже наблюдалось после ректального введения. Системное воздействие (AUC) было увеличено примерно в 60 раз (однократная доза) или 200 раз (многократные дозы) после интрацекального введения по сравнению с ректальным введением, что, однако, все еще было очень низким общим системным воздействием (Фигура 8). Незначительное накопление cV1q-huFc в плазме наблюдалось в большинстве групп после 5 ежедневных доз. Подобно плазменным концентрациям, уровни cV1q-huFc в ткани сильно варьировались в пределах групп и временных точек. Оба пути введения, интрацекальный и внутриректальный, привели к измеряемым концентрациям антител как в проксимальном, так и в дистальном отделах толстой кишки (Фигура 9). В отличие от системного воздействия, при котором наблюдалась четкая разница между ректальным и интрацекальным лечением, уровни в тканях были сопоставимы для обоих путей введения. Существенной разницы между здоровыми и больными животными не наблюдалось. Повторное ежедневное введение в течение 5 дней подряд приводило к небольшому накоплению cV1q-huFc в проксимальном и дистальном отделах толстой кишки в большинстве групп.

Пример 7

Влияние на стимулированные ниволумабом CD4⁺ Т-клетки человека

Ингибиторы иммунных контрольных точек, нацеленные на PD-1 или CTLA-4, являются очень эффективным средством лечения рака. Однако они сопровождаются серьезными иммунными побочными эффектами, такими как колит. Таким образом, влияние Ab-REW на стимулированные ниволумабом CD4⁺ Т-клетки человека исследовали путем измерения секреции IFN γ в реакции смешанных лимфоцитов (MLR). Было показано, что ниволумаб вызывал более высокие уровни секреции IFN γ из CD4⁺ Т-клеток по сравнению с необработанными клетками. Сопутствующая инкубация с ниволумабом и Ab-REW или инфликсимабом ингибировала секрецию IFN γ дозозависимым образом, хотя наблюдалась заметная вариабельность между различными парами доноров и сериями опытов (Фигура 10). Тем не менее, тенденция была последовательной

во всех сериях опытов и парах доноров, что указывает на то, что это истинный биологический феномен. Оказалось, что донорские пары со способностью секретировать более высокие уровни $IFN\gamma$, не реагировали так же устойчиво, как пары доноров, демонстрирующие более слабую секрецию $IFN\gamma$, что позволяет предположить, что вариабельность доноров и интенсивность начальной стимуляции влияют на эффективность анти- $TNF\alpha$ агентов в этом контексте. Интересно, что значения IC_{50} в целом были ниже для Ab-REW (диапазон 0,028 - 0,266 мкг/мл), чем для инфликсимаба (диапазон 0,068 - 0,326 мкг/мл), что позволяет предположить, что Ab-REW, возможно, является более сильным ингибитором опосредованной ниволумабом секреции $IFN\gamma$, чем инфликсимаб.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Фармацевтическая композиция, содержащая активный агент, выбранный из группы, состоящей из антител, специфичных к фактору некроза опухоли альфа (TNF α), и их функциональных фрагментов и производных, для применения в лечении или профилактике по меньшей мере одного побочного эффекта со стороны желудочно-кишечного тракта, вызванного терапией рака у пациента, предпочтительно вызванного одним или несколькими ингибиторами иммунных контрольных точек (ICP), при этом указанное лечение или профилактика включает местное введение указанной композиции в пораженную часть желудочно-кишечного тракта указанного пациента, например, в подвздошную кишку и/или толстый кишечник указанного пациента, где указанный пациент является пациентом с раком.
2. Фармацевтическая композиция для применения по п. 1, где пациент также проходит лечение одним или несколькими ингибиторами ICP.
3. Фармацевтическая композиция для применения по п. 2, где лечение одним или несколькими ингибиторами ICP прерывается менее чем на четыре недели, предпочтительно менее чем на две недели, более предпочтительно на одну неделю, даже более предпочтительно менее чем на пять дней, четыре дня, три дня, два дня или один день, и наиболее предпочтительно, когда лечение не прерывается.
4. Фармацевтическая композиция для применения по любому из предыдущих пунктов, где указанный побочный эффект выбирают из группы, состоящей из диареи, вызванной ингибитором ICP, колита, вызванного ингибитором ICP, энтероколита, вызванного ингибитором ICP, и их комбинаций.
5. Фармацевтическая композиция для применения по п. 4, где указанные диарея, колит и/или энтероколит, вызванные ингибитором ICP, характеризуются токсичностью 1-ой степени или токсичностью 2-ой степени.

6. Фармацевтическая композиция для применения по п. 4, где указанное лечение предотвращает прогрессирование указанных диареи, колита и/или энтероколита, вызванных ингибитором ICP, до более высокой степени токсичности.

5

7. Фармацевтическая композиция для применения по любому из предыдущих пунктов, где указанное применение включает профилактическую терапию диареи, колита и/или энтероколита, вызванных ингибитором ICP.

10 8. Фармацевтическая композиция для применения по п. 7, где пациент одновременно проходит лечение одним или несколькими ингибиторами ICP.

15 9. Фармацевтическая композиция для применения по любому из предыдущих пунктов, где указанный пациент страдает диареей, вызванной ингибитором ICP, но не страдает колитом, вызванным ингибитором ICP, или энтероколитом, вызванным ингибитором ICP, и где указанная композиция предназначена для применения для предотвращения развития или начала колита, вызванного ингибитором ICP, и/или энтероколита, вызванного ингибитором ICP, у указанного пациента.

20

10. Фармацевтическая композиция для применения по п. 9, где указанный пациент страдает диареей, вызванной ингибитором ICP, с токсичностью 2-ой степени.

25 11. Фармацевтическая композиция для применения по п. 9, где указанный пациент страдает диареей, вызванной ингибитором ICP, с токсичностью 1-ой степени.

30 12. Фармацевтическая композиция для применения по любому из предыдущих пунктов, где один или несколько ингибиторов ICP выбраны из группы, состоящей из антител, специфичных к цитотоксическому Т-лимфоцит-ассоциированному белку-4 (CTLA-4), антител, специфичных к белку-1 запрограммированной гибели клеток (PD-1), и антител, специфичных к лиганду белка 1 запрограммированной смерти 1 (PD-L1).

13. Фармацевтическая композиция для применения по п. 12, где антитела, специфичные к PD-1, выбраны из группы, состоящей из пембролизумаба и ниволумаба; антитела, специфичные к PD-L1, выбраны из группы, состоящей из атезолизумаба, авелумаба и дурвалумаба, или антитела, специфичные к CTLA-4, выбраны из группы, состоящей из ипилимумаба и тремелиумаба.

14. Фармацевтическая композиция для применения по любому из предыдущих пунктов, где антитела, специфичные к TNF α , и их функциональные фрагменты выбраны из группы, состоящей из инфликсимаба, адалимумаба, этанерцепта, цертолизумаб пегола, голимумаба и их функциональных фрагментов и производных.

15. Фармацевтическая композиция для применения по любому из предыдущих пунктов, где аминокислотная последовательность антител, специфичных к TNF α , и их функциональных фрагментов включает

(I) аминокислоты 233P, 234V, 235A и делецию в положении аминокислоты 236; и аминокислоту 434A или аминокислоты 252Y, 254T и 256E; и необязательно аминокислоты 239D, 330L и 332E или аминокислоты 326A, 332E и 333A; и/или

(II) аминокислоты 380A и 434A и необязательно аминокислоту 307T; и/или

(III) аминокислоту 434W, и необязательно аминокислоту 428E и/или аминокислоту 311R,

где нумерация аминокислот относится к нумерации ЕС.

16. Фармацевтическая композиция для применения по любому из предыдущих пунктов, где указанное местное введение включает или состоит из перорального введения фармацевтической композиции.

17. Фармацевтическая композиция для применения по п. 16, где фармацевтическая композиция представляет собой композицию с отсроченным высвобождением.

18. Фармацевтическая композиция для применения по п. 16 или 17, где фармацевтическая композиция представляет собой твердую лекарственную форму в форме пилюли, гранулы, микрочастицы, наночастицы, мини-таблетки, сферы, капсулы, таблетки или системы доставки лекарственного средства из множества частиц, покрытой покрытием с отсроченным высвобождением, которое предотвращает высвобождение активного агента до попадания в подвздошную кишку, тонко-толстокишечную область или толстый кишечник желудочно-кишечного тракта (ЖКТ).

10

19. Фармацевтическая композиция для применения по п. 18, где покрытие с отсроченным высвобождением включает по меньшей мере один компонент, выбранный из группы, состоящей из таких как: поливинилацетатфталат, тримеллитат ацетата целлюлозы, фталат гидроксипропилметилцеллюлозы HP-50, HP-55 или HP-55S, фталат ацетата целлюлозы, сукцинат ацетата гидроксипропилметилцеллюлозы (HPMCAS), поли(метакриловая кислота, этилакрилат) 1: 1, поли(метакриловая кислота, метилметакрилат) 1: 1, поли(метакриловая кислота, метилметакрилат) 1: 2, хондроитинсульфат, пектин, гуаровая камедь, хитозан, инулин, лактулоза, раффиноза, стахиоза, альгинат, декстран, ксантановая камедь, камедь плодов рожкового дерева, арабиногалактан, амилоза, циклодекстрин, пуллулан, каррагинан, склероглюкан, хитин, курдулан, леван, амилопектин, крахмал, стойкий крахмал, азосоединения, разлагаемые бактериями, расщепляющими азосвязи; и их комбинации.

20

20. Фармацевтическая композиция для применения по любому из п.п. 16 - 19, которая включает покрытие с замедленным высвобождением или матрицу замедленного высвобождения.

30

21. Фармацевтическая композиция для применения по п. 20, в которой указанное покрытие с замедленным высвобождением или матрица замедленного высвобождения включает материал, который распадается в зависимости от времени.

22. Фармацевтическая композиция для применения по п. 21, где указанный материал, который распадается в зависимости от времени, выбирают из группы, состоящей из таких как: поли(этилакрилат, метилметакрилат) 2: 1 (например, Eudragit® NM 30D или Eudragit NE 30D); поли(этилакрилат, метилметакрилат, триметиламмониетилметакрилат хлорид) 1: 2: 0,1 (например, Eudragit® RS 30D); этилцеллюлоза (например, Surelease® или Aquacoat ECD); поли(этилакрилат, метилметакрилат, триметиламмониетилметакрилат хлорид) 1:2:0,2 (например, Eudragit® RL 30D); поливинилацетат (например, Kollicoat® SR 30D); и их комбинаций.

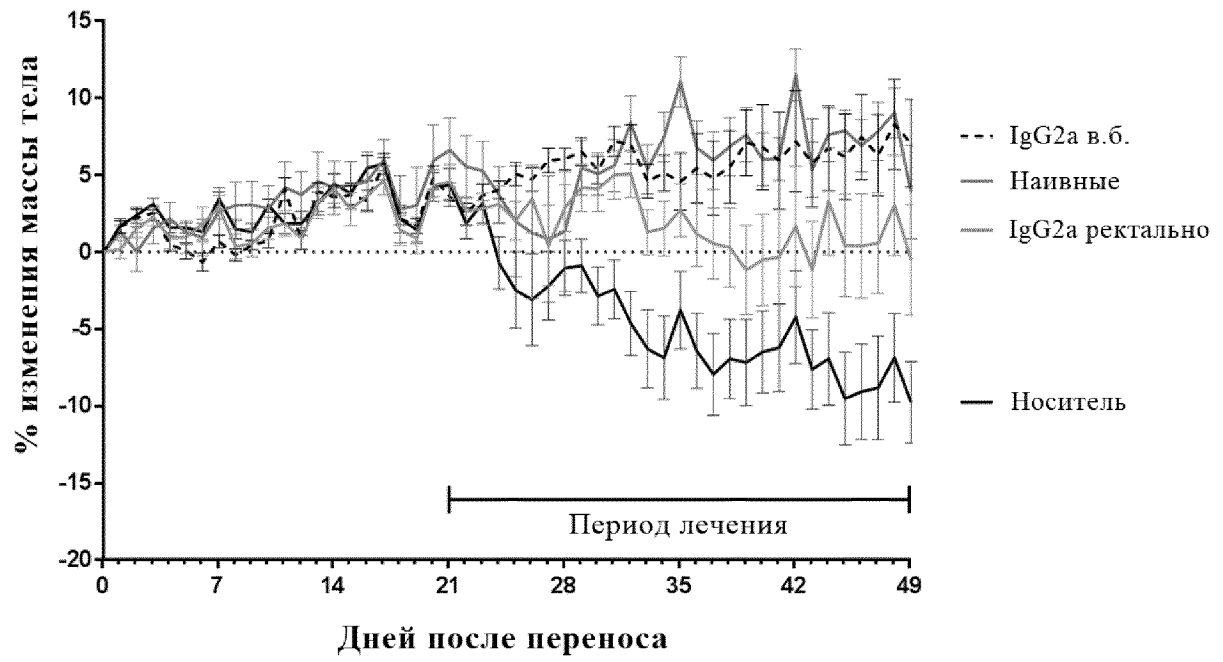
10

23. Фармацевтическая композиция для применения по любому из п.п. 16 - 22, где указанная композиция включает ядро с замедленным высвобождением, покрытое оболочкой с отсроченным высвобождением.

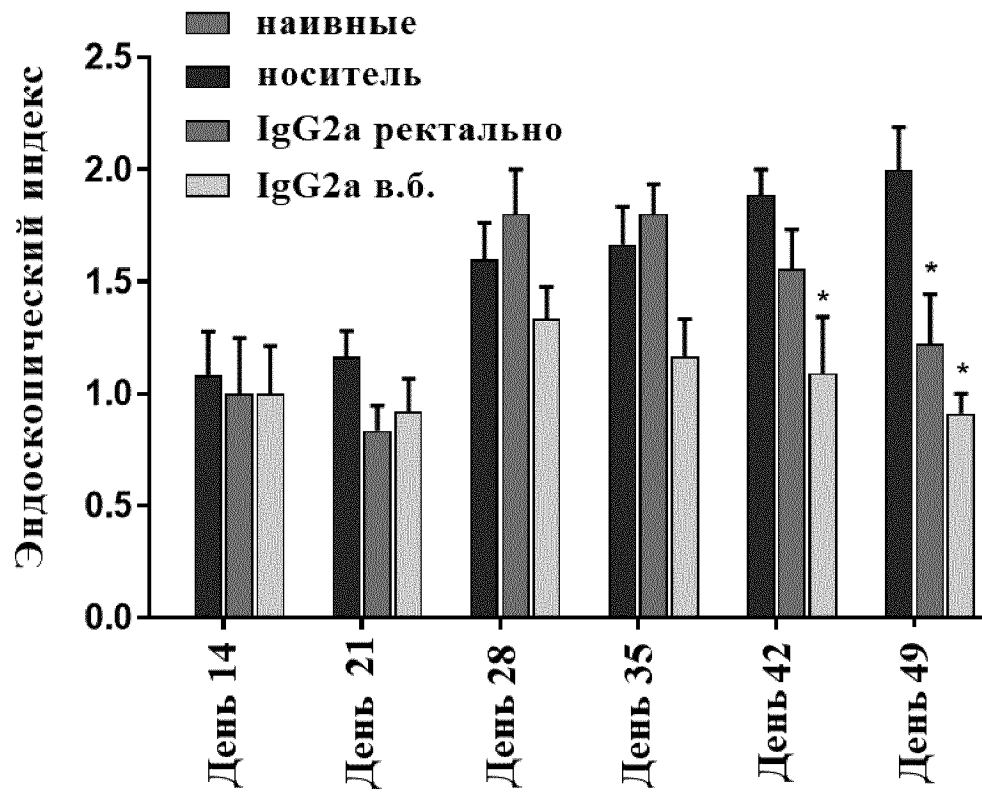
15 24. Фармацевтическая композиция для применения по любому из п.п. 16 - 22, где указанная композиция включает ядро, покрытие с замедленным высвобождением и покрытие с отсроченным высвобождением.

20 25. Фармацевтическая композиция для применения по любому из п.п. 1 - 15, где указанное лечение включает ректальное введение композиции, и где композиция предпочтительно представляет собой клизму, гель, пену или суппозиторий.

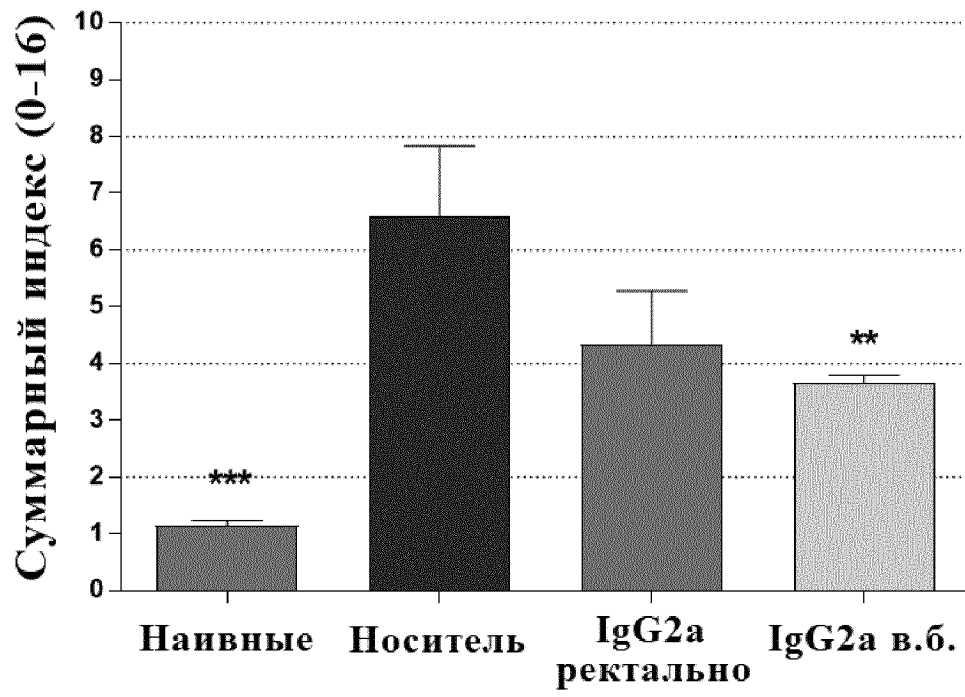
Фигура 1



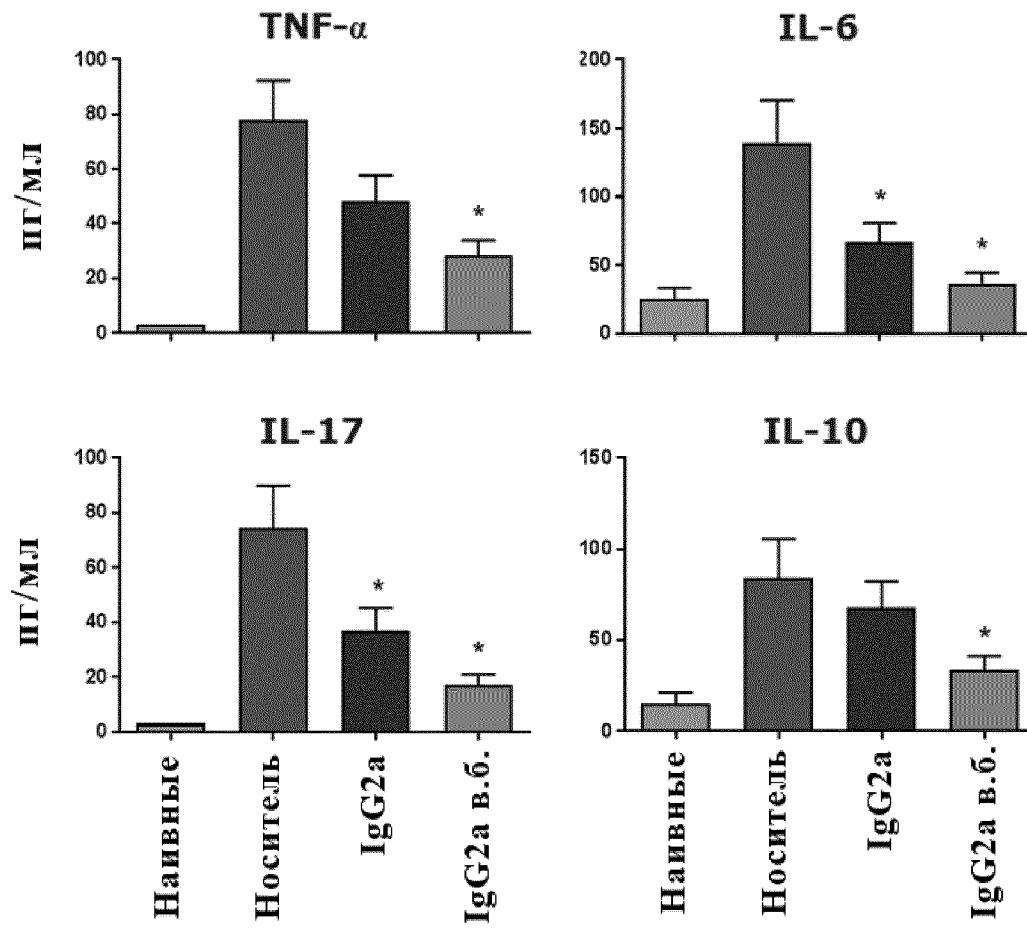
Фигура 2



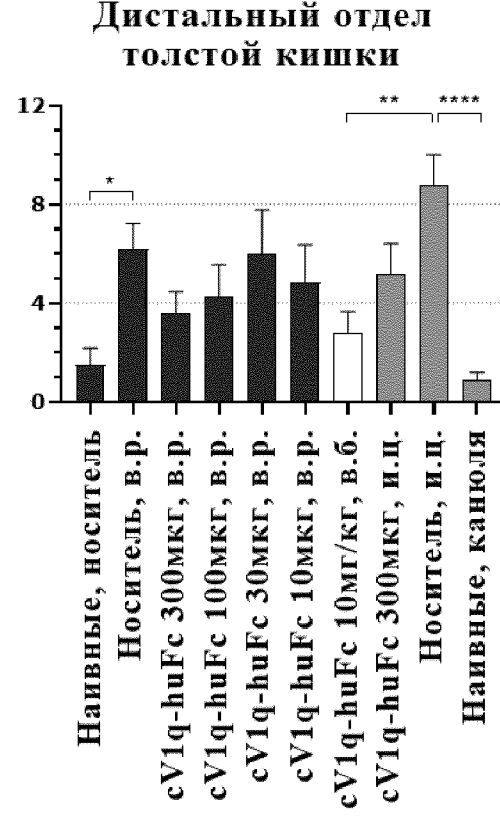
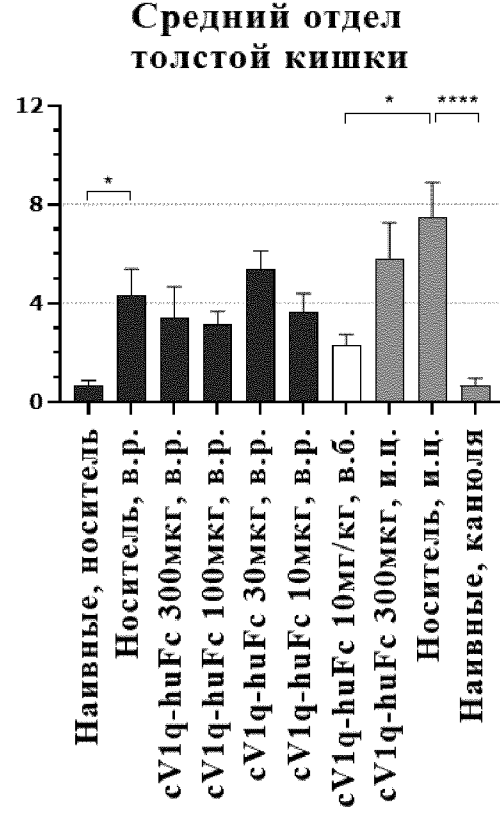
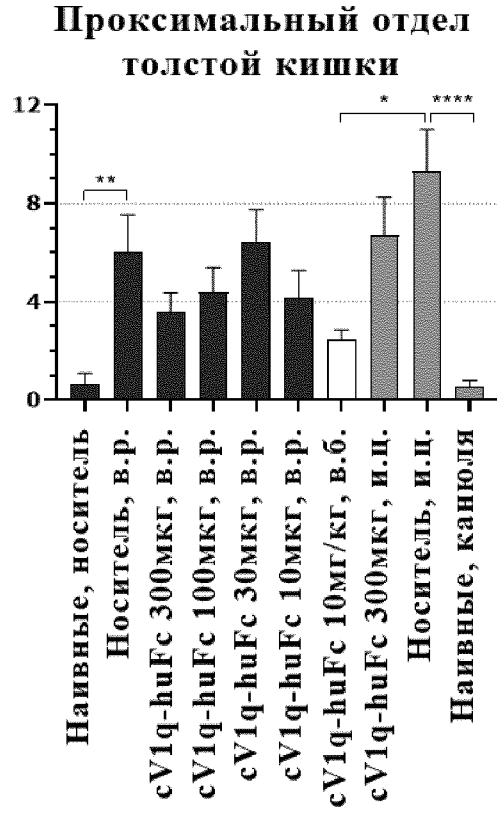
Фигура 3



Фигура 4

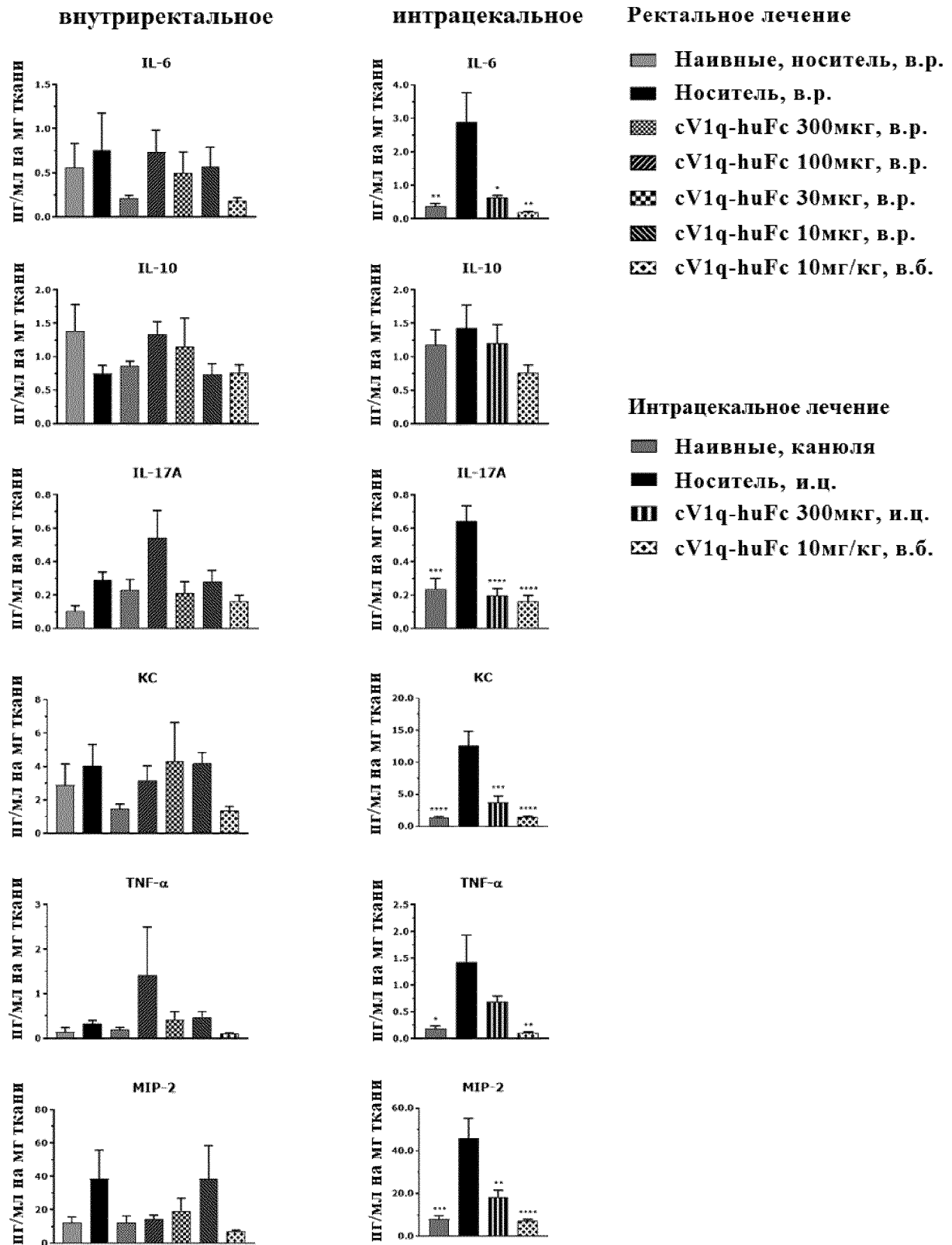


Гистологический индекс (\pm SEM)

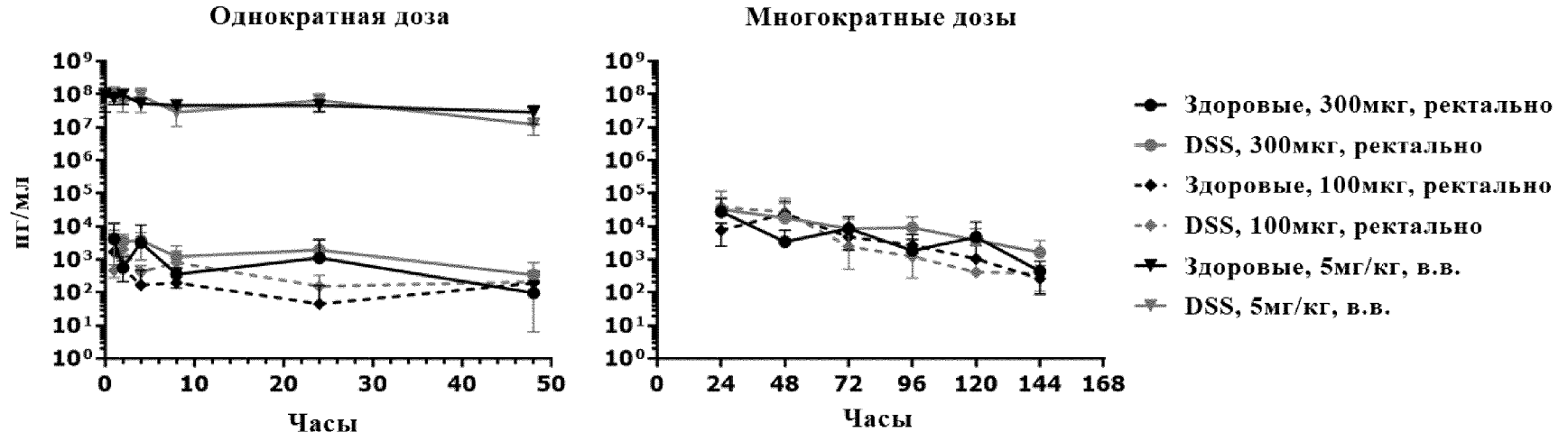


Фигура 5

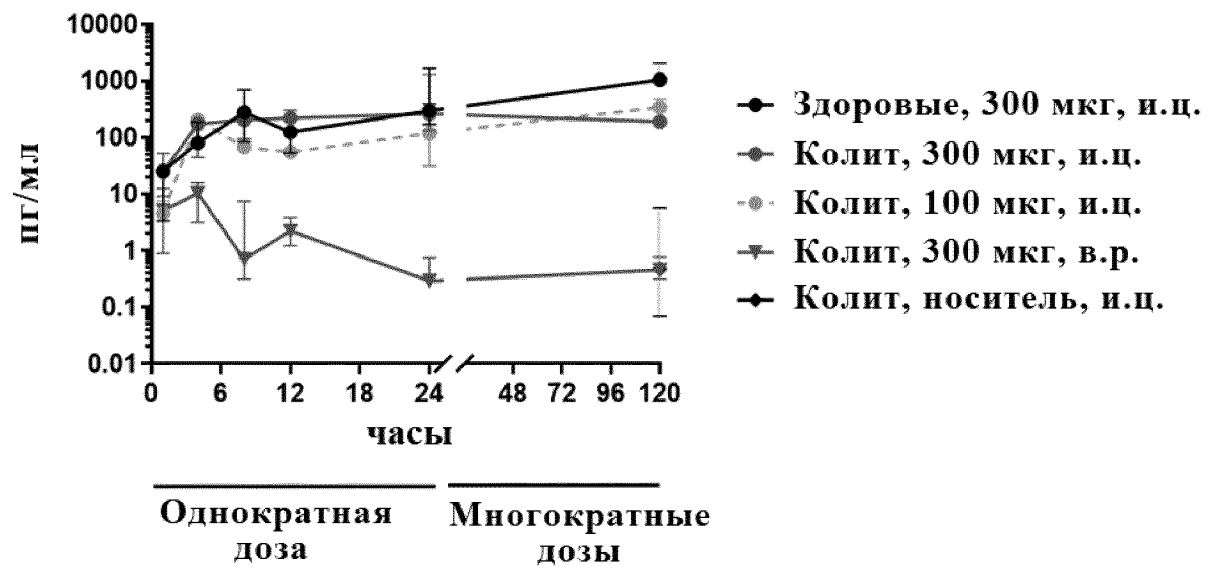
Фигура 6



Фигура 7



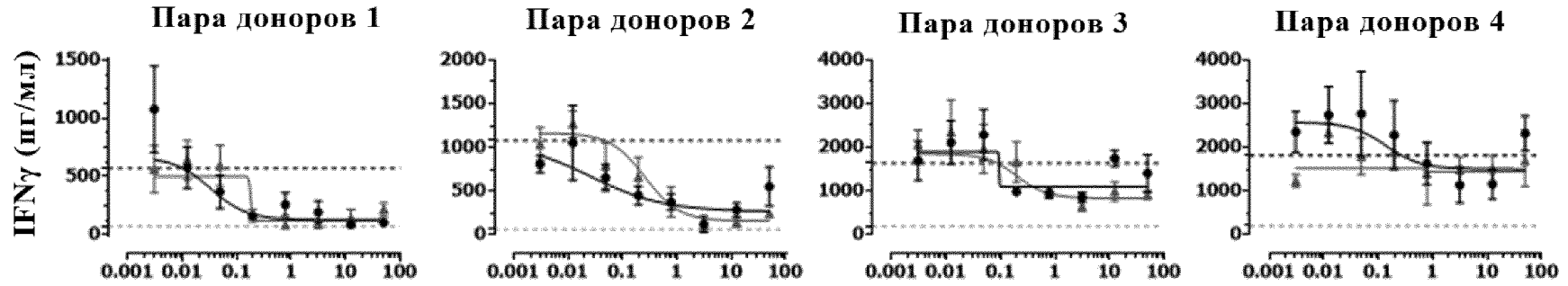
Фигура 8



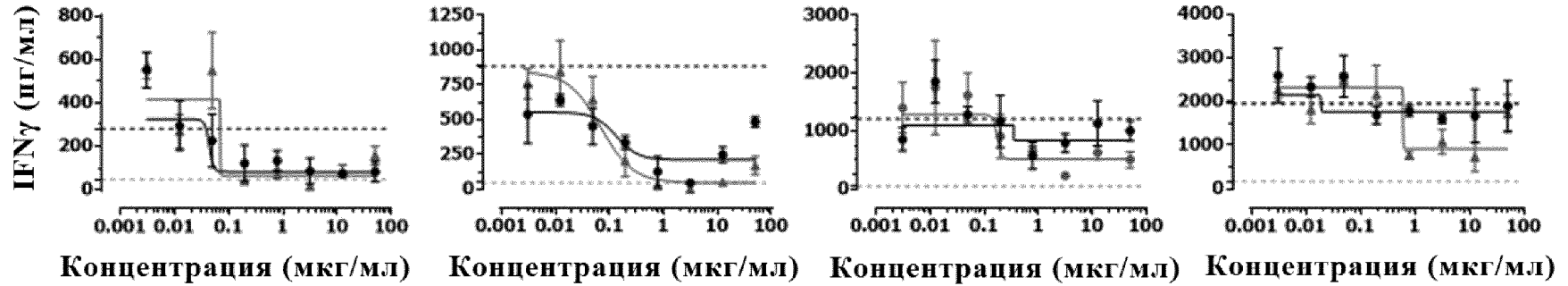


- Здоровые, 300 мкг, и.ц.*
- Колит, 300 мкг, и.ц.*
- Колит, 100 мкг, и.ц.*
- ▼ Колит, 300 мкг, в.р.
- ◆ Колит, носитель, и.ц.

Серия опытов 3



Серия опытов 4



● TR10

▲ Индифликсимаб