

(19)



Евразийское  
патентное  
ведомство

(21) 202390344 (13) A1

## (12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки  
2023.03.24(51) Int. Cl. A61K 39/00 (2006.01)  
A61P 11/00 (2006.01)(22) Дата подачи заявки  
2021.07.19

## (54) ПРИМЕНЕНИЕ СРЕДСТВ, ИСТОЩАЮЩИХ ЭПИДЕРМАЛЬНЫЙ ФАКТОР РОСТА, В ЛЕЧЕНИИ ХРОНИЧЕСКОЙ ОБСТРУКТИВНОЙ БОЛЕЗНИ ЛЕГКИХ

(31) CU-2020-0034

(32) 2020.07.30

(33) CU

(86) PCT/CU2021/050006

(87) WO 2022/022756 2022.02.03

(71) Заявитель:

ЦЕНТРО ДЕ ИНМУНОЛОГИЯ  
МОЛЕКУЛАР (CU)

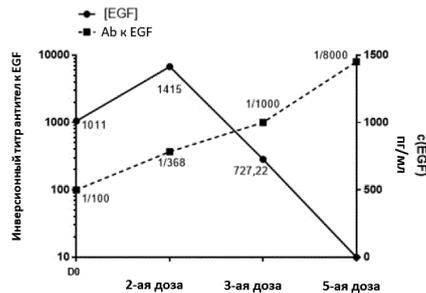
(72) Изобретатель:

Масиас Абрахам Ампаро Эмилия,  
Кромбет Рамос Таниа, Леон Монзон  
Калет, Сааведра Хэрнандес Данай,  
Сантос Моралес Орестес, Ненингер  
Винагерас Элия, Пино Альфонсо  
Педро Пабло, Эрнандес Рейе  
Дженисбель дэ ла Кариада, Рид Мари,  
Ли Кельвин (CU)

(74) Представитель:

Рыбина Н.А. (RU)

(57) Изобретение относится к областям биотехнологии и медицины. В частности, в нем описывается применение деприваторов эпидермального фактора роста (EGF), которые способствуют снижению и/или истощению уровней эпидермального фактора роста в сыворотке, что имеет значение при лечении хронической обструктивной болезни легких. Эти средства могут представлять собой вакцинные композиции, содержащие в качестве активного начала конъюгат между рекомбинантным EGF человека и белком-носителем.



A1

202390344

202390344

A1

# **ПРИМЕНЕНИЕ СРЕДСТВ, ИСТОЩАЮЩИХ ЭПИДЕРМАЛЬНЫЙ ФАКТОР РОСТА, В ЛЕЧЕНИИ ХРОНИЧЕСКОЙ ОБСТРУКТИВНОЙ БОЛЕЗНИ ЛЕГКИХ**

## **ОБЛАСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ МЕТОДИКИ**

Настоящее изобретение относится к области биотехнологии и медицины. В частности, оно относится к применению деприваторов эпидермального фактора роста (EGF), а именно вакцинных композиций, содержащих эпидермальный фактор роста (EGF) в качестве активного начала и белок-носитель, в лечении хронической обструктивной болезни легких (ХОБЛ).

## **ПРЕДПОСЫЛКИ СОЗДАНИЯ ИЗОБРЕТЕНИЯ**

ХОБЛ характеризуется наличием хронической и плохо обратимой обструкции дыхательных путей, связанной с аномальной и хронической воспалительной реакцией, которая приводит к ремоделированию дыхательных путей, паренхимы и легочных артерий, а также имеет системные эффекты (Fletcher C. et al. (1977) *Br Med J.* 1 (6077): 1645-1648). Распространенность и смертность от ХОБЛ значительно увеличились во всем мире, это заболевание в настоящее время является четвертой глобальной причиной смертности (публикация НИИ № 2701А, март 2001 г., доступно на сайте: [www.goldcopd.com](http://www.goldcopd.com)). Длительное воздействие табачного дыма и продуктов сгорания биомассы в закрытых помещениях связано с ХОБЛ (Pérez-Padilla R. et al. (1996) *Am J Respir Crit Care Med.* 154: 701-706; Ogozco-Levi M. et al. *Eur Respir J.* (2006); 27 (3): 542-546). Гомозиготный дефицит альфа-1-антитрипсина связан с ранней эмфиземой у курильщиков, что приводит к возникновению ХОБЛ (Исследовательская группа по регистрации дефицита альфа-1-антитрипсина (1998) *Am J Respir Crit Care Med.* 158 (1): 49 -59).

ХОБЛ является наибольшим фактором риска развития рака легких у курильщиков, у которых риск заболеть этим видом рака в 4,5 раза выше. Также заболевание встречается у 50-90% больных раком легкого. Рак легкого также является ведущей причиной заболеваемости и смертности у пациентов с ХОБЛ (Anthonisen N.R. et al. (2005) *Ann Intern Med.*; 142: 233-239).

Описано участие EGF и его рецептора (EGFR) в патогенезе ХОБЛ. Показано, что позитивная регуляция EGFR, достигаемая за счет добавления его лигандов EGF

и TGF $\alpha$  в эпителиальные клетки дыхательных путей, индуцирует экспрессию генов MUC5AC и MUC2, ответственных за продукцию слизи в дыхательных путях. Экспрессия большинства рецепторов и лигандов системы EGF/EGFR выше в поврежденном эпителии, чем в интактном эпителии. Сверхэкспрессия EGF/EGFR и/или других лигандов семейства может привести к изменениям в нормальном эпителии дыхательных путей, таким как метаплазия или гиперплазия эпителия (Willem I. et al. Am J Clin Pathol. (2006) 125: 184 -192). Эозинофилы человека индуцируют выработку муцина эпителиальными клетками дыхательных путей за счет активации EGFR (Burgel P. R. et al. (2001) J Immunol. 167: 5948-5954).

В настоящее время лечение ХОБЛ носит принципиально паллиативный характер, то есть направлено в основном на контроль клинических симптомов заболевания. В клинической практике применение лекарственных средств, направленных на этиопатогенез заболевания, находится на стадии клинического изучения.

Применение ингибитора активности тирозинкиназы под названием BIBW 2948 изучалось при ХОБЛ, но применяемые схемы лечения не только не снижали продукцию слизи у пациентов, но и приводили к возникновению серьезных нежелательных явлений, таких как повышение уровней ферментов трансаминаз. Хотя более высокие дозы *in vivo* продемонстрировали влияние на снижение продукции слизи, нежелательные явления, о которых сообщалось в клинических испытаниях, позволили увеличить дозу (Woodruff W. et al. (2010) Am J Respir Crit Care Med 181: 438– 445).

В заявке на патент США 2011/0192396 описано применение фармацевтических композиций, содержащих EGF и буферный или физиологический раствор, в качестве подходящего фармацевтического носителя для лечения ХОБЛ. Эффект EGF на гиперсекрецию слизи, защиту альвеолярных клеток и улучшение патологических тканевых проявлений на моделях эмфиземы легких был продемонстрировано в доклинических исследованиях *in vitro* и *in vivo*.

Уместно подчеркнуть, что ни в одном техническом решении или научной публикации до настоящего изобретения не было описано применение иммунотерапевтических средств, вызывающих депривацию EGF в сыворотке путем активной иммунизации. Новизна настоящего изобретения заключается в

обеспечении лечения ХОБЛ менее токсичными, блокирующими EGF терапевтическими альтернативами, которые заключаются в применении вакцинных композиций, индуцирующих продукцию специфических антител против EGF. Безопасность, продемонстрированная этими вакцинными композициями при лечении рака, позволяет использовать их при продолжительной терапии, что приводит к увеличению эффективности этих видов лечения. В настоящем изобретении его авторы добились улучшения клинических симптомов ХОБЛ путем введения вышеупомянутых вакцинных композиций пациентам, страдающим этим заболеванием.

### **КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ**

В одном варианте осуществления объектом настоящего изобретения является применение иммунотерапевтических средств, истощающих EGF, для лечения хронической обструктивной болезни легких. В частности, указанные иммунотерапевтические средства относятся к вакцинным композициям, которые индуцируют продукцию специфических антител против EGF. Эти вакцинные композиции содержат в качестве активного начала конъюгат между рекомбинантным EGF человека и белком-носителем, который может представлять собой субъединицу В холерного токсина, столбнячный анатоксин, KLH и P64k из *Neisseria meningitidis*. Кроме того, вакцинная композиция содержит адъювант, выбранный из группы, включающей: неполный адъювант Фрейнда, адъюванты на основе сквалена, адъюванты синтетического происхождения, адъюванты минерального происхождения, адъюванты растительного происхождения, адъюванты животного происхождения, белковые адъюванты в виде частиц и липосомы.

В другом варианте осуществления настоящее изобретение обеспечивает способ лечения субъекта, нуждающегося в этом, включающий введение вышеупомянутых вакцинных композиций внутримышечным путем, предпочтительно в диапазоне доз от 20 до 70 мкл/кг, причем первые четыре дозы вводят каждые 14 дней, а остальные - каждые 28 дней в течение минимального периода 6 месяцев.

### **ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ**

## Вакцинные композиции

Вакцинные композиции по настоящему изобретению, которые используются в качестве деприваторов и EGF при лечении ХОБЛ, представляют собой все композиции, индуцирующие выработку антител против EGF, которые способствуют снижению и/или истощению уровней EGF в сыворотке.

Примерами указанных вакцинных композиций являются все те, которые содержат в качестве активного начала конъюгат между рекомбинантным EGF человека (rhEGF) и белком-носителем. Указанный белок-носитель выбран из группы, без ограничения включающей субъединицу В холерного токсина, столбнячный анатоксин, KLN и P64k из *Neisseria meningitidis*. Кроме того, вышеупомянутые вакцинные композиции содержат адъювант, выбранный из группы, включающей: неполный адъювант Фрейнда, адъюванты на основе сквалена, адъюванты синтетического происхождения, адъюванты минерального происхождения, адъюванты растительного происхождения, адъюванты животного происхождения, белковые адъюванты в виде частиц и липосомы.

## Способы лечения

Другой вариант осуществления настоящего изобретения обеспечивает способ лечения описанными выше вакцинными композициями. Пациенты с диагнозом ХОБЛ, соответствующие критериям GOLD (Рекомендации Глобальной инициативы по хронической обструктивной болезни легких) (отчет семинара NHLBI/ВОЗ. Публикация NIH № 2701A, март 2001 г., доступно на сайте: [www.goldcopd.com](http://www.goldcopd.com)), имеют право на получение этого лечения.

Согласно этим критериям, ХОБЛ характеризуется наличием хронической и плохо обратимой обструкции дыхательных путей, связанной с патологической воспалительной реакцией. Его основными клиническими симптомами являются: кашель, выделение мокроты и одышка или чувство удушья при ходьбе или повышении уровня активности, которые с годами все более ухудшаются. Обструкция дыхательных путей диагностируется с помощью спирометрии при соотношении: Объем форсированного выдоха за первую секунду (FEV1)/форсированная жизненная емкость легких (FVC) после

постбронхорасширяющего теста менее 0,7 (или ниже нижней границы нормы у лиц старше 60 лет).

В настоящем изобретении пациенты с ХОБЛ, иммунизированные вакцинными композициями, описанными в настоящем изобретении, проявят клиническую пользу. Термин клиническая польза в контексте настоящего изобретения относится к тому факту, что лечение такими средствами улучшает и/или стабилизирует по меньшей мере один из респираторных клинических симптомов, присутствующих у пациентов.

В контексте данного изобретения термин «терапевтический эффект» относится к благотворному или желаемому воздействию лечения в целом, например к улучшению или ремиссии симптомов заболевания.

Введение вакцинных композиций, содержащих EGF в качестве активного начала, предпочтительно осуществляют внутримышечным путем, причем первые 4 дозы вводят каждые 14 дней, а остальные - каждые 28 дней с допустимым диапазоном времени задержки 3 дня. Диапазон доз, при которых будут вводиться указанные композиции, будет составлять от 20 до 70 мкл/кг массы тела или от 20 до 70 мкг общих белков на килограмм массы тела или до 5 мг общих белков, более предпочтительно от 30 до 60 мкг/кг. Минимальная продолжительность лечения составит 6 месяцев. Этот график лечения может изменяться по частоте и дозировке в зависимости от полученных результатов и может быть оптимизирован с учетом генерируемых титров антител и улучшения и/или стабилизации клинических симптомов.

Настоящее изобретение дополнительно описано с помощью следующих примеров и фигур. Однако эти примеры не следует рассматривать как ограничивающие объем изобретения.

### **КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ФИГУР**

**ФИГУРА 1.** Исходные уровни EGF в сыворотке крови у пациентов с ХОБЛ III/IV степени (тяжелая и очень тяжелая стадии по критериям GOLD) по сравнению с не получавшими лечения и получавшими химиотерапию пациентами с немелкоклеточным раком легкого III/IV стадии (НМРЛ).

**ФИГУРА 2.** Иммунодепривация уровней EGF в сыворотке и титров антител к EGF, достигнутых с течением времени у пациента с ХОБЛ III степени, получавшего СИМАвах-EGF.

**ФИГУРА 3.** Процент ингибирования фосфорилирования посредством антител к EGF.

## ПРИМЕРЫ

**Пример 1.** Как пациенты с ХОБЛ, так и пациенты с НМРЛ имеют высокие исходные уровни EGF в сыворотке.

Исходные уровни сывороточного EGF в образцах пациентов с ХОБЛ III/IV степени и группы пациентов с НМРЛ определяли с помощью ИФА (Gonzalez, EC et al. *J Immunoassay Immunochem.* (2016) 16: 1-12). Аналогичные уровни сывороточного EGF были обнаружены у пациентов с ХОБЛ и НМРЛ (Фигура 1).

**Пример 2.** Лечение посредством СИМАвах-EGF индуцирует антитела к EGF при иммунодепривации сывороточного EGF и улучшает клинические симптомы ХОБЛ.

Пациента с ХОБЛ тяжелой степени (III степень по критериям GOLD) иммунизировали посредством 2,4 мг действующего вещества терапевтической вакцины СИМАвах-EGF, обеспечивая всего пять доз внутримышечно. Титры антител к EGF определяли количественно с помощью ИФА (Gonzalez G. A. et al. *Ann Oncol* (1998); 9: 431-435). Уровень EGF в сыворотке крови во время лечения определяли с помощью ИФА (González, EC et al. *J Immunoassay Immunochem.* (2016) 16: 1-12).

На Фигуре 2 показано, что в ходе лечения была достигнута иммунодепривация уровня сывороточного EGF, связанная с повышением титров антитела к EGF у пациента.

Кроме того, до начала и после окончания курса лечения вакциной проводили спирометрию. В таблице 1 представлены результаты FEV1 - лучшего показателя тяжести обструкции дыхательных путей.

**Таблица 1.** Динамика FEV1 у пациента с ХОБЛ III степени, получившего лечение посредством СИМАвах-EGF.

<b>Лечение посредством СИМАвах-EGF</b>	<b>FEV1%</b>	<b>Критерии GOLD</b>
До	48	III степень, тяжелая, более или равная 30% и менее 50%
После	60	II степень, умеренная, более или равная 50% и менее 80%

Как видно из результатов, представленных в таблице 1, лечение посредством СИМАвах-EGF улучшало клинические респираторные симптомы у получавшего лечение пациента, уменьшая степень тяжести в соответствии с критериями GOLD.

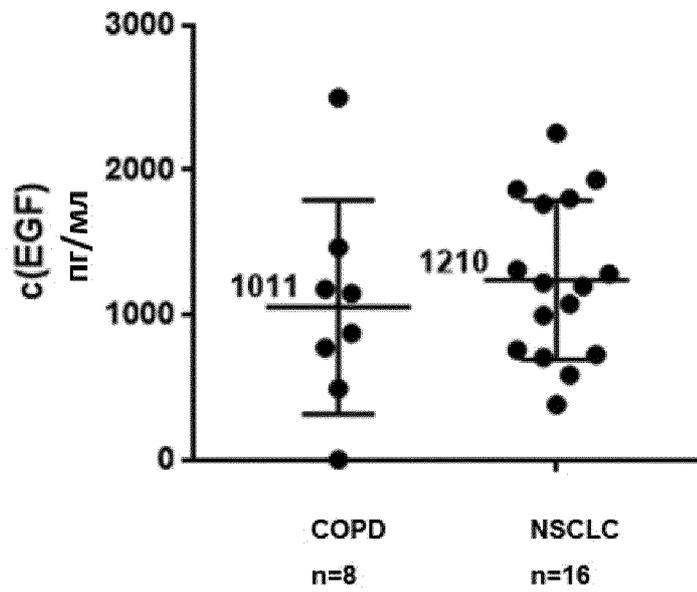
**Пример 3. Лечение посредством СИМАвах-EGF индуцирует антитела к EGF со способностью ингибировать фосфорилирование рецептора EGF.**

Пациента с ХОБЛ тяжелой степени (III степень по классификации GOLD) иммунизировали посредством 2,4 мг действующего вещества терапевтической вакцины СИМАвах-EGF, обеспечивая всего 8 доз внутримышечно. Ингибирующую способность сыворотки, полученной до первой иммунизации и при пятой иммунизации, оценивали методом вестерн-блоттинга, инкубируя их в течение одного часа с опухолевыми клетками, экспрессирующими рецептор EGF. Антитело AG1478 использовали в качестве контроля ингибирования. На фигуре 3 показано, что антитела, образующиеся при вакцинации, ингибируют фосфорилирование рецептора EGF в присутствии EGF (ингибирование 36%).

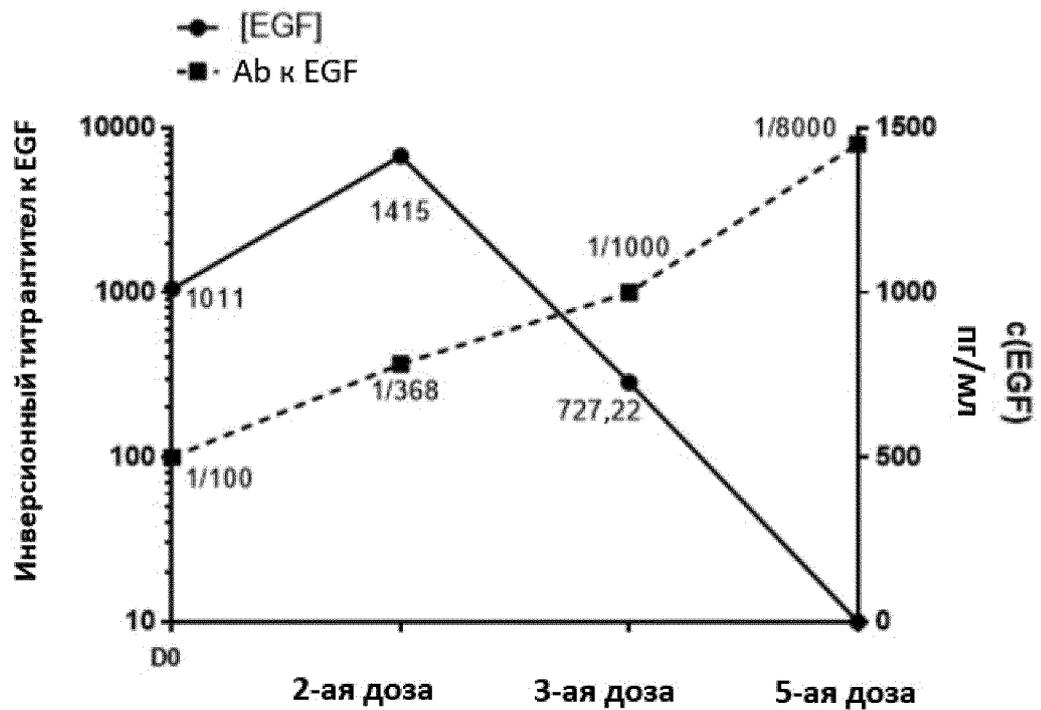
## ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Применение иммунотерапевтического средства, истощающего эпидермальный фактор роста (EGF), в лечении хронической обструктивной болезни легких.
2. Применение по п. 1, причем иммунотерапевтическое средство представляет собой вакцинную композицию, которая индуцирует выработку специфических антител против EGF.
3. Применение по п. 2, причем вакцинная композиция содержит в качестве активного начала конъюгат между рекомбинантным EGF человека и белком-носителем.
4. Применение по п. 3, причем белок-носитель выбран из группы, включающей:
  - субъединицу холерного токсина В
  - столбнячный анатоксин,
  - КЛН и
  - Р64к из *Neisseria meningitidis*.
5. Применение по п. 3, причем вакцинная композиция дополнительно содержит адъювант, выбранный из группы, включающей:
  - неполный адъювант Фрейнда,
  - адъюванты на основе сквалена,
  - адъюванты синтетического происхождения,
  - адъюванты минерального происхождения,
  - адъюванты растительного происхождения,
  - адъюванты животного происхождения,
  - белковые адъюванты в виде частиц и
  - липосомы.
6. Способ лечения субъекта, нуждающегося в этом, включающий введение вакцинных композиций по любому из пп. 2-5 внутримышечно в диапазоне доз от 20 до 70 мкл/кг, причем первые четыре дозы вводят каждые 14 дней, а остальные - каждые 28 дней в течение минимального периода 6 месяцев.

ФИГ. 1



ФИГ. 2



ФИГ. 3

