

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(21) **202391009** (13) **A1**

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

(43) Дата публикации заявки
2023.06.05

(51) Int. Cl. *A61K 39/395* (2006.01)
A61P 9/14 (2006.01)
A61P 17/00 (2006.01)
C07K 16/46 (2006.01)

(22) Дата подачи заявки
2021.10.05

(54) **СПОСОБЫ ЛЕЧЕНИЯ ДЕРМАТОМИОЗИТА**

(31) **63/087,577**

(72) Изобретатель:

(32) **2020.10.05**

Тамбурины Пол П. (US)

(33) **US**

(74) Представитель:

(86) **PCT/US2021/053540**

Медведев В.Н. (RU)

(87) **WO 2022/076388 2022.04.14**

(71) Заявитель:

**АЛЕКСИОН ФАРМАСЬЮТИКАЛЗ,
ИНК. (US)**

(57) В настоящем изобретении предусмотрены способы лечения субъекта, имеющего дерматомиозит, или с подозрением на его наличие с применением композиции, содержащей биспецифический слитый белок. Композицию можно вводить с применением медицинского устройства, такого как носимый инъектор.

A1

202391009

202391009

A1

ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

2420-577779EA/085

СПОСОБЫ ЛЕЧЕНИЯ ДЕРМАТОМИОЗИТА

Перекрестная ссылка на родственные заявки

Настоящая заявка испрашивает преимущество предварительной заявки на патент США № 63/087577, поданной 5 октября 2020 года, содержание которой включено в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте.

Предпосылки изобретения

Дерматомиозит представляет собой редкое воспалительное заболевание, наиболее распространенное среди взрослых в возрасте от 40 до 60 лет и среди детей в возрасте от 5 до 15 лет. Основным симптомом дерматомиозита является мышечная слабость, наиболее часто поражающая туловище и мышцы, расположенные ближе всего к туловищу. Пораженные мышцы могут быть жесткими, болезненными и/или чувствительными и в конечном итоге могут демонстрировать признаки дегенерации и истощения мышц (атрофии). Мышечная слабость и дегенерация, как правило, прогрессируют и могут приводить к постепенной неспособности выполнять определенные задачи, такие как поднятие рук, подъем по ступенькам или одевание. У индивидуумов с дерматомиозитом также развиваются характерные изменения кожи, которые в некоторых случаях могут предшествовать мышечной слабости. Данные характерные изменения кожи могут являться единственным признаком дерматомиозита при появлении заболевания у не более 40% людей. Аномалии кожи включают отличительную кожную сыпь на лице, веках, груди, спине, костяшках пальцев, коленях или локтях, которая, как правило, является пятнистой и красновато-фиолетового цвета и которая может быть зудящей или болезненной. Другие симптомы дерматомиозита включают мышечную боль, чувствительность в мышцах, затрудненное глотание, проблемы с дыханием, твердые отложения кальция под кожей, утомляемость, необъяснимую потерю веса и лихорадку.

Не существует лекарства от дерматомиозита, и лечение фокусируется на улучшении в отношении симптомов. Кортикостероиды, иммуносупрессивные лекарственные средства и противомалярийные лекарственные средства применяли для лечения субъектов с диагнозом дерматомиозита; однако данные средства могут характеризоваться серьезными побочными эффектами, в частности при введении в высоких дозах и/или в течение длительных периодов времени. Соответственно, существует необходимость в новых видах терапии для лечения дерматомиозита.

Сущность изобретения

В настоящем изобретении предусмотрены способы лечения субъекта (например, субъекта-человека), имеющего дерматомиозит, или с подозрением на его наличие посредством введения композиции, содержащей биспецифический слитый белок, который связывается с компонентом комплемента C5 (C5) и человеческим сывороточным альбумином (HSA). Биспецифический слитый белок можно вводить с применением медицинского устройства; соответственно, в настоящем изобретении также предусмотрены

медицинские устройства, содержащие композицию, содержащую биспецифический слитый белок. Медицинское устройство можно применять для введения композиции субъекту любым подходящим путем, таким как путем подкожной инъекции.

В первом аспекте в настоящем изобретении предусмотрен способ лечения субъекта, имеющего дерматомиозит, или с подозрением на его наличие посредством введения субъекту фармацевтической композиции, содержащей терапевтически эффективное количество слитого белка, характеризующегося последовательностью под SEQ ID NO:1, и фармацевтически приемлемый носитель. В другом аспекте в настоящем изобретении предусмотрено медицинское устройство для лечения субъекта, имеющего дерматомиозит, или с подозрением на его наличие, при этом медицинское устройство содержит фармацевтическую композицию, содержащую слитый белок с SEQ ID NO:1 (например, фармацевтически эффективное количество слитого белка) и фармацевтически приемлемый носитель. В некоторых вариантах осуществления устройство представляет собой автоинъектор или предварительно заполненный шприц. В некоторых вариантах осуществления предварительно заполненный шприц представляет собой многокамерный предварительно заполненный шприц или шприц с лиофилизатом (т. е. шприц, содержащий лиофилизированную форму слитого белка, описанного в данном документе). В некоторых вариантах осуществления устройство представляет собой носимое устройство (например, носимый инъектор).

В другом аспекте в настоящем изобретении предусмотрен терапевтический набор, содержащий: (а) контейнер, включающий этикетку; и (b) композицию, содержащую слитый белок с SEQ ID NO:1 (например, терапевтически эффективное количество слитого белка) и фармацевтически приемлемый носитель; при этом на этикетке указано, что композиция подлежит введению субъекту, имеющему дерматомиозит, или с подозрением на его наличие.

В некоторых вариантах осуществления любого из вышеописанных аспектов дерматомиозит представляет собой ювенильный дерматомиозит. В некоторых вариантах осуществления любого из вышеописанных аспектов дерматомиозит представляет собой дерматомиозит взрослых. В некоторых вариантах осуществления любого из вышеописанных аспектов дерматомиозит представляет собой амиопатический дерматомиозит. В некоторых вариантах осуществления любого из вышеописанных аспектов дерматомиозит ассоциирован с раком (дерматомиозит, ассоциированный со злокачественными опухолями).

Слитые белки, описанные в данном документе, обеспечивают несколько преимуществ. Например, терапевтическое применение слитого белка VHH к HSA-VHH к C5, описанного в данном документе, обеспечивает ряд преимуществ. Домен VHH к HSA обеспечивает слитый белок с улучшенной стабильностью и более длительным периодом полужизни по сравнению с терапевтическим препаратом, который не содержит связывающий HSA фрагмент. В дополнение, поскольку слитый белок состоит из двух доменов VHH, он намного меньше обычного четырехцепочечного антитела, которое

содержит домены VH и VL (домены VHH являются примерно в 10 раз меньше обычного IgG). Небольшой размер обеспечивает более высокое проникновение в ткани по сравнению с обычными четырехцепочечными антителами и их антигенсвязывающими фрагментами, и домены VHH, как известно, способны достигать мишеней и эпитопов, недоступных для обычных четырехцепочечных антител и их антигенсвязывающих фрагментов. В дополнение домены VHH являются хорошо растворимыми и не характеризуются тенденцией к агрегации. Они также являются высокостабильными в отношении нагревания, pH, протеаз и других денатурирующих средств или условий. Как следствие слитый белок, описанный в данном документе, можно вводить при более высоких дозах по сравнению с обычным четырехцепочечным антителом или его антигенсвязывающим фрагментом. Наконец, слитый белок VHH к HSA-VHH к C5 нацелен на специфический белок в пути комплемента. Соответственно, его можно применять для лечения субъектов, имеющих дерматомиозит, в более высокой дозе, в течение более длительного времени и/или с меньшими побочными эффектами, чем противовоспалительные или иммуносупрессивные средства, в настоящее время применяемые для лечения дерматомиозита.

Другие признаки и преимущества настоящего изобретения будут очевидны из следующих подробного описания и формулы изобретения.

Определения

Для облегчения понимания настоящего изобретения ряд терминов определен ниже. Термины, определенные в данном документе, имеют значения, которые обычно понимает специалист в данной области в областях, относящихся к настоящему изобретению. Термины, такие как формы единственного числа, не предназначены для обозначения только единственного объекта, но включают общий класс, конкретный пример которого можно применять для иллюстрации. Терминологию в данном документе применяют для описания конкретных вариантов осуществления по настоящему изобретению, но их применение не ограничивает настоящее изобретение, за исключением указанных в формуле изобретения.

Используемый в данном документе термин "приблизительно" относится к значению, которое находится в пределах 10% выше или ниже описываемого значения.

Используемые в данном документе любые значения, представленные в диапазоне значений, включают как нижнюю, так и верхнюю границы и любые значения в пределах как верхней, так и нижней границ.

Используемый в данном документе термин "связывающий домен" относится к части белка или антитела, которые содержат аминокислотные остатки, которые взаимодействуют с антигеном. Связывающие домены включают без ограничения антитела (например, полноразмерные антитела), а также их антигенсвязывающие части. Связывающий домен наделяет связывающее средство его специфичностью и аффинностью для антигена. Термин также охватывает любой белок, имеющий связывающий домен, который является гомологичным или в основном гомологичным домену, связывающему иммуноглобулин.

Используемый в данном документе термин "антитело" включает целые антитела или любой антигенсвязывающий фрагмент (т. е. "антигенсвязывающую часть") или его

одноцепочечную версию. В одном предпочтительном варианте осуществления термин "антитело" относится гликопротеину, содержащему по меньшей мере две тяжелые (H) цепи и две легкие (L) цепи, взаимосвязанные дисульфидными связями, или его антигенсвязывающей части. Используемые в данном документе термины "тяжелая цепь" и "легкая цепь" относятся к любому полипептиду Ig, имеющему достаточную последовательность переменного домена для наделения специфичностью для целевого антигена. Каждая тяжелая цепь содержит переменную область тяжелой цепи (сокращенно в данном документе как V_H) и константную область тяжелой цепи. Константная область тяжелой цепи содержит три домена: CH1, CH2 и CH3. Каждая легкая цепь содержит переменную область легкой цепи (сокращенно в данном документе как V_L) и константную область легкой цепи. Константная область легкой цепи содержит один домен, CL. В полноразмерных легкой и тяжелой цепях переменный и константный домены как правило соединяются посредством области "J", состоящей из приблизительно 12 или более аминокислот, с тяжелой цепью, также содержащей область "D", состоящую из приблизительно 10 или более аминокислот. Переменные области каждой пары легкой/тяжелой цепи как правило образуют антигенсвязывающий сайт. Области V_H и V_L можно дополнительно подразделять на области гипервариабельности, называемые определяющими комплементарность областями (CDR), перемежающиеся с областями, которые являются более консервативными, называемыми каркасными областями (FR). Каждая V_H и V_L состоит из трех CDR и четырех FR, расположенных от амино-конца до карбокси-конца в следующем порядке: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4. Переменные области тяжелой и легкой цепей содержат связывающий домен, который взаимодействует с антигеном. Константные области антител могут опосредовать связывание иммуноглобулина с тканями хозяина или факторами, в том числе различными клетками иммунной системы (например, эффекторными клетками) и первыми компонентами (C1q) классической системы комплемента.

Используемый в данном документе термин "антигенсвязывающий фрагмент" антитела (или просто "фрагмент антитела") относится к одному или нескольким фрагментам или частям антитела, которые сохраняют способность специфически связываться с антигеном. Такие "фрагменты" составляют, например, от приблизительно 8 до приблизительно 1500 аминокислот в длину, предпочтительно от приблизительно 8 до приблизительно 745 аминокислот в длину, предпочтительно от приблизительно 8 до приблизительно 300, например, от приблизительно 8 до приблизительно 200 аминокислот или от приблизительно 10 до приблизительно 50 или 100 аминокислот в длину. Было показано, что антигенсвязывающую функцию антитела могут выполнять фрагменты полноразмерного антитела. Примеры связывающих фрагментов, охватываемых термином "антигенсвязывающий фрагмент" антитела, включают: (i) Fab-фрагмент, моновалентный фрагмент, содержащий домены V_L , V_H , CL и CH1; (ii) F(ab')₂-фрагмент, бивалентный фрагмент, содержащий два Fab-фрагмента, связанные дисульфидным мостиком в шарнирной области; (iii) Fd-фрагмент, содержащий домены V_H и CH1; (iv) Fv-фрагмент,

содержащий домены V_L и V_H одного плеча антитела, (v) dAb-фрагмент (Ward *et al.*, (1989) *Nature* 341:544-546), который состоит из домена V_H ; и (vi) выделенную определяющую комплементарность область (CDR) или (vii) комбинацию двух или более выделенных CDR, которые могут необязательно быть соединены синтетическим линкером. Кроме того, хотя два домена Fv-фрагмента, V_L и V_H , кодируются отдельными генами, их можно соединить с применением рекомбинантных способов синтетическим линкером, который обеспечивает возможность сделать их одной белковой цепью, в которой области V_L и V_H образуют пары с образованием моновалентных молекул (известных как одноцепочечный Fv (sFv); см., например, Bird *et al.* (1988) *Science* 242:423-426; и Huston *et al.* (1988) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 85:5879-5883). Такие одноцепочечные антитела также предназначены для охвата термином "антигенсвязывающий фрагмент" антитела. Данные фрагменты антитела получают с применением общепринятых методик, известных специалисту в данной области, и фрагменты подвергают скринингу в отношении применимости таким же образом, что и интактные антитела. Антигенсвязывающие части можно получать с помощью методик рекомбинантной ДНК или с помощью ферментного или химического расщепления интактных иммуноглобулинов.

Считается, что антитело, иммуноглобулин или иммунологически функциональный фрагмент иммуноглобулина или сконструированные полипептиды или слитые белки, раскрытые в данном документе, "специфически" связывают антиген, когда молекула преимущественно распознает свой антиген-мишень в сложной смеси белков и/или макромолекул. Используемый в данном документе термин "специфически связывает" относится к способности антитела, иммуноглобулина или иммунологически функционального фрагмента иммуноглобулина или сконструированного полипептида или слитого белка по настоящему изобретению связываться с антигеном, содержащим эпитоп с K_D , составляющей по меньшей мере 10^{-6} М, 10^{-7} М, 10^{-8} М, 10^{-9} М, 10^{-10} М, 10^{-11} М, 10^{-12} М или больше и/или связываться с эпитопом с аффинностью, которая в по меньшей мере два раза больше чем аффинность для неспецифического антигена.

Используемый в данном документе термин "антитело с тяжелыми цепями" относится к антителу, которое состоит из двух тяжелых цепей и в котором отсутствуют две легкие цепи, обнаруженные в обычных антителах.

Термин "домен V_{HH} " относится к переменным доменам, присутствующим во встречающихся в природе антителах с тяжелыми цепями, чтобы отличить их от переменных доменов тяжелой цепи, которые присутствуют в обычных четырехцепочечных антителах (также упоминаются в данном документе как "домены V_H ") и от переменных доменов легкой цепи, которые присутствуют в обычных четырехцепочечных антителах (также упоминаются в данном документе как "домены V_L "). Однодоменные последовательности переменных доменов тяжелой цепи из антитела с тяжелыми цепями могут упоминаться как антитела V_{HH} или V_{HH} , или фрагменты антител V_{HH} или V_{HH} или домены V_{HH} или V_{HH} .

Используемый в данном документе термин "пептидный линкер" относится к одной

или несколькими аминокислотным остаткам, вставленным или включенным между полипептидами или слитым белком. Пептидный линкер, например, можно вставить или включить в переход между полипептидами слитого белка на уровне последовательности. Идентичность и последовательность аминокислотных остатков в линкере могут варьировать в зависимости от требуемой вторичной структуры. Например, глицин, серин и аланин являются применимыми для линкеров, характеризующихся максимальной гибкостью. Любой аминокислотный остаток можно считать линкером в комбинации с одним или несколькими другими аминокислотными остатками, которые могут являться такими же или отличными от первого аминокислотного остатка, для конструирования более крупных пептидных линкеров, если необходимо, в зависимости от требуемых свойств.

Используемый в данном документе термин "период полужизни" относится ко времени, которое требуется для снижения концентрации слитого белка в сыворотке крови на 50% *in vivo*, в результате, например, разрушения молекулы и/или клиренса или секвестрации молекулы с помощью физиологических механизмов. Способы для фармакокинетического анализа и определения периода полужизни известны специалистам в данной области техники.

Термин "биспецифический" относится к слитому белку, который способен связывать два антигена. Термин "мультивалентный слитый белок" означает слитый белок, содержащий два или более антигенсвязывающих сайтов. Термин "мультиспецифический слитый белок" относится к слитому белку, который способен связывать две или более связанных и несвязанных мишеней.

Используемый в данном документе термин "вектор" относится к любой молекуле (например, нуклеиновой кислоте, плазмиде или вирусу), которую применяют для переноса кодирующей информации в систему экспрессии (например, клетку-хозяина или систему экспрессии *in vitro*). Один тип вектора представляет собой "плазмиду", которая относится к молекуле кольцевой двухнитевой ДНК (dsDNA), в которую можно вставлять дополнительные сегменты ДНК. Другой тип вектора представляет собой вирусный вектор, где дополнительные сегменты ДНК можно вставлять в вирусный геном. Определенные векторы способны к автономной репликации в клетке-хозяине, в которую они введены (например, бактериальные векторы, характеризующиеся бактериальной точкой начала репликации, и эписомальные векторы млекопитающих). Другие векторы (например, неэписомальные векторы млекопитающих) можно интегрировать в геном клетки-хозяина при введении в клетку-хозяина и, следовательно, подвергать репликации вместе с геномом хозяина. В дополнение, определенные векторы способны направлять экспрессию кодирующих последовательностей, с которыми они являются функционально связанными. Такие векторы упоминаются в данном документе как "векторы экспрессии".

Используемый в данном документе термин "функционально связанный" относится к расположению фланкирующих последовательностей, где фланкирующие последовательности выполнены или собраны для обеспечения требуемой функции. Таким образом, фланкирующая последовательность, функционально связанная с кодирующей

последовательностью, может быть способна осуществлять репликацию, транскрипцию и/или трансляцию кодирующей последовательности. Кодирующая последовательность является функционально связанной с промотором, например, где промотор способен направлять транскрипцию той кодирующей последовательности. Фланкирующая последовательность необязательно должна быть граничащей с кодирующей последовательностью, чтобы считаться функционально связанной, если она функционирует правильно.

Используемый в данном документе термин "клетка-хозяин" относится к клетке, в которую можно вводить вектор экспрессии. Клетка-хозяин предназначена для обозначения не только конкретной указанной клетки, но также потомства такой клетки. Поскольку определенные модификации могут возникать в последующих поколениях вследствие либо мутации, либо влияния окружающей среды, такое потомство фактически может не являться идентичным родительской клетке, но такие клетки все еще включены в пределах объема термина "клетка-хозяин", используемого в данном документе. Для экспрессии слитого белка по настоящему изобретению можно применять широкий спектр систем экспрессии клеток-хозяев, в том числе бактериальные, дрожжевые, бакуловирусные системы экспрессии и системы экспрессии млекопитающих (а также системы экспрессии фагового дисплея).

Используемые в данном документе термины "пациент" и "субъект" включают субъектов-людей или субъектов-животных.

Используемые в данном документе термины "фармацевтическая композиция" или "терапевтическая композиция" относятся к соединению или композиции, способным вызывать требуемый терапевтический эффект при введении пациенту.

Используемые в данном документе термины "фармацевтически приемлемый носитель" или "физиологически приемлемый носитель" относятся к одному или нескольким материалам состава, подходящим для осуществления или улучшения доставки слитого белка по настоящему изобретению.

Используемые в данном документе термины "лечение" или "лечить" относятся как к терапевтическому лечению, так и к профилактическим или превентивным мерам. Нуждающиеся в лечении включают тех, у кого имеется заболевание или состояние, а также тех, кто подвержен риску наличия заболевания или состояния, или тех, у кого заболевание или состояние необходимо предупредить.

Используемый в данном документе термин "терапевтически эффективное" количество, например, слитого белка, описанного в данном документе, относится к количеству или дозировке, достаточным для получения требуемого терапевтического результата. Терапевтически эффективное количество представляет собой количество, которое при введении приводит к уменьшению тяжести симптомов заболевания (например, уменьшению симптомов дерматомиозита, повышению частоты и длительности бессимптомных периодов заболевания или предупреждению нарушения или инвалидизации вследствие недуга) или которое является достаточным в течение некоторого

периода времени для подавления одного или нескольких клинически определенных патологических процессов, ассоциированных с состоянием, которое лечат, например, дерматомиозитом. В определенных вариантах осуществления терапевтически эффективное количество терапевтического средства, описанного в данном документе, может включать количество (или различные количества в случае многократных введений), которое уменьшает выраженность сыпи, ассоциированной с дерматомиозитом, или которое уменьшает мышечную слабость и/или атрофию. Терапевтически эффективное количество может варьировать в зависимости от множества факторов и состояний, связанных с пациентом, которого лечат, и тяжестью нарушения.

Подробное описание настоящего изобретения

В настоящем изобретении включены способы лечения дерматомиозита с применением слитого белка, в том числе одного домена антитела к человеческому сывороточному белку (HSA), последовательности вариабельного домена тяжелой цепи из антитела с тяжелыми цепями (упоминается в данном документе как домен V_HH) и домена V_HH антитела к компоненту комплемента C5 (C5). Два домена V_HH соединены пептидным линкером. Слитый белок можно применять для лечения любой формы дерматомиозита, такой как дерматомиозит взрослых, ювенильный дерматомиозит или амиопатический дерматомиозит (также известный как дерматомиозит без миозита). Поскольку слитый белок специфически связывается с HSA и C5, он может характеризоваться более целенаправленным воздействием в отношении иммунной системы, чем противовоспалительные и иммуносупрессивные средства, применяемые в настоящее время для лечения дерматомиозита. Соответственно, слитый белок по настоящему изобретению можно применять для лечения субъектов, имеющих дерматомиозит, в более высокой дозе, в течение более длительного времени и/или с меньшими побочными эффектами, чем средства, в настоящее время применяемые для лечения дерматомиозита.

Дерматомиозит

Дерматомиозит представляет собой редкое воспалительное заболевание, характеризующееся мышечной слабостью и отличительной кожной сыпью. Заболевание является наиболее распространенным у взрослых в возрасте от 40 до 60 лет и у детей в возрасте от 5 до 15 лет, и известно, что оно чаще поражает женщин чем мужчин. Мышечная слабость наиболее часто поражает туловище и мышцы, расположенные ближе всего к туловищу (т. е. проксимальные мышцы), такие как бедра, плечи, предплечья и шея. Пораженные мышцы могут быть жесткими, болезненными и/или чувствительными и в конечном итоге могут демонстрировать признаки дегенерации и истощения мышц (атрофии). Мышечная слабость и дегенерация, как правило, прогрессируют и могут приводить к изменению походки и постепенной неспособности выполнять определенные задачи, такие как поднятие рук, подъем по ступенькам или одевание. У индивидуумов с дерматомиозитом также развиваются характерные изменения кожи, которые в некоторых случаях могут предшествовать мышечной слабости. Данные характерные изменения кожи могут являться единственным признаком дерматомиозита при появлении заболевания у не

более 40% людей. Аномалии кожи включают отличительную кожную сыпь на лице, веках, груди, спине, костяшках пальцев, коленях или локтях, которая, как правило, является пятнистой и красновато-фиолетового цвета и которая может быть зудящей или болезненной. Данная сыпь может также упоминаться как гелиотропная сыпь. Другие симптомы дерматомиозита включают мышечную боль, чувствительность в мышцах, затрудненное глотание (дисфагия), трудности с артикуляцией речи (дисфония), проблемы с дыханием, твердые отложения кальция под кожей, боль в суставах, утомляемость, необъяснимую потерю веса и лихорадку.

Не существует лекарства от дерматомиозита, и лечение фокусируется на улучшении в отношении симптомов. Лекарственные средства, применяемые для лечения дерматомиозита, включают кортикостероиды (например, преднизон), иммуносупрессивные средства (например, азатиоприн, метотрексат, микофенолата мофетил, циклофосфамид, такролимус или циклоспорин), ритуксимаб и противомаларийные лекарственные средства (например, гидроксихлорохин). Такие лекарственные средства можно применять вместе со способами введения слитых белков, описанных в данном документе. Хирургическое вмешательство и внутривенную инфузию иммуноглобулина (IVIg) также можно применять для лечения дерматомиозита. Такие процедуры также можно применять вместе со способами введения слитых белков, описанных в данном документе. Конкретная(конкретные) основная(основные) причина(причины) дерматомиозита остается(остаются) неизвестной(неизвестными); однако считается, что дерматомиозит представляет собой аутоиммунное нарушение, и доказательство свидетельствует о вовлечении генетических факторов, факторов окружающей среды и иммунных факторов. Например, отложение комплемента в микрососудах наблюдали у субъектов с дерматомиозитом, но еще предстоит определить, как активируется система комплемента, какой преобладающий путь комплемента вовлечен и роль отложения комплемента в патогенезе заболевания.

Биспецифический слитый белок, представляющий собой антитело к C5

Терапевтические средства, которые нацелены на систему комплемента, представляют собой новый подход к лечению дерматомиозита. Система комплемента действует в сочетании с другими иммунологическими системами организма для защиты от проникновения клеточных и вирусных патогенов. Существует по меньшей мере 25 белков системы комплемента, которые представляют собой сложный набор белков плазмы крови и мембранных кофакторов. Белки плазмы крови составляют приблизительно 10% от глобулинов в сыворотке крови позвоночных. Компоненты системы комплемента осуществляют свою функцию иммунной защиты путем взаимодействий в ряде сложных, но точных событий ферментативного расщепления и связывания с мембраной. Получаемый в результате каскад системы комплемента приводит к образованию продуктов с опсонической, иммунорегуляторной и литической функцией.

Каскад комплемента может развиваться классическим путем (CP), лектиновым путем или альтернативным путем (AP). Лектиновый путь, как правило, инициируется

связыванием маннозосвязывающего лектина (MBL) с субстратами с высоким содержанием маннозы. AP может являться независимым от антитела и инициироваться определенными молекулами на поверхностях патогена. CP, как правило, инициируется распознаванием антитела и связыванием с антигенным сайтом на клетке-мишени. Данные пути сходятся на конвертазе C3, где компонент комплемента C3 расщепляется активной протеазой для получения C3a и C3b.

В данном документе описан биспецифический слитый белок, который связывается с белком комплемента, который расщепляется комплексом, содержащим C3b, компонент комплемента C5 (C5). C5 состоит из альфа- и бета-цепей полипептида и расщепляется на протяжении активации как классического, так и альтернативного путей комплемента. В дополнение к связыванию с C5 биспецифический слитый белок, описанный в данном документе, также связывается с человеческим сывороточным альбумином (HSA) для увеличения периода полужизни белка. Связывающие фрагменты антитела к C5 и антитела к HSA в слитом белке представляют собой домены VHH, каждый из которых содержит три последовательности CDR. Домены VHH к C5 и VHH к HSA соединены пептидным линкером для образования слитого белка.

Слитый белок VHH к C5-VHH к HSA характеризуется последовательностью:

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRPVSNYAAAWFRQAPGKEREFVSAINW
QKTATYADSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAA VFRVVPKTKQYDY
DYWGQGTLLTVSSGGGGAGGGGAGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRAH
SDYAMAWFRQAPGQEREFVAGIGWSGGDTLYADSVRGRFTNSRDNSKNTLYLQMNSL
RAEDTAVYYCAARQGQYIYSSMRSDSYDYWGQGTLLTVSS (SEQ ID NO: 1).

Он кодируется полинуклеотидом, характеризующимся последовательностью:

GAGGTGCAGCTGGTTGAATCTGGCGGAGGACTTGTGAAGCCTGGCGGCTCTC
TGAGACTGTCTTGTGCTGCTTCTGGCAGACCCGTGTCTAATTACGCCGCTGCCTGGTT
TAGACAGGCCCTGGCAAAGAGAGAGAGTTCGTCAGCGCCATCAACTGGCAGAAAA
CCGCCACATACGCCGACAGCGTGAAGGGCAGATTCACCATCAGCCGGGACAACGCC
AAGAACAGCCTGTACCTGCAGATGAACTCCCTGAGAGCCGAGGACACCGCCGTGTA
TTATTGTGCCCGCTGTTTAGAGTGGTGGCCCTAAGACACAGTACGACTACGATTA
CTGGGGCCAGGGCACCTGGTTACAGTTTCTAGTGGCGGAGGCGGAGCTGGTGGTG
GCGGAGCAGGAGGCGGAGGATCTGAAGTTCAACTTGTCGAGAGTGGCGGCGGACTG
GTTCAACCAGGCGGAAGTCTTAGACTGAGCTGTGCTGCTAGCGGCAGAGCCCACTCT
GATTACGCTATGGCATGGTTCAGGCAGGCCCCAGGACAAGAAAGGGAATTTGTGGC
CGGAATCGGTTGGAGCGGCGGAGATACACTGTACGCCGATTCTGTGCGCGGCAGGT
TCACCAACTCCAGAGACAACAGCAAGAACACGCTCTATCTCCAGATGAATAGCCTG
CGGGCCGAAGATACAGCCGTGTA C T A C T G T G C T G C C C G G C A G G G C C A G T A C A T C T A
CAGCAGCATGAGAAGCGACAGCTATGACTATTGGGGACAGGGAACCCTCGTGACCG
TGTCCTCT (SEQ ID NO: 2).

Часть слитого белка, которая соответствует связывающему домену антитела к HSA, характеризуется последовательностью:

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRPVSNYAAAWFRQAPGKEREFVSAINW
 QKTATYADSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAA VFRV VAPKTQYDY
 DYWGQGT LVT VSS (SEQ ID NO: 3). Связывающий домен антитела к HSA содержит три
 последовательности CDR: первую CDR (CDR1), характеризующуюся
 последовательностью: GRPVSNYA (SEQ ID NO: 4), вторую CDR (CDR2),
 характеризующуюся последовательностью: INWQKTAT (SEQ ID NO: 5), и третью CDR
 (CDR3), характеризующуюся последовательностью: AAVFRV VAPKTQYDYDY (SEQ ID
 NO: 6).

Часть слитого белка, которая соответствует связывающему домену антитела к C5,
 характеризуется последовательностью:

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRAHSDYAMA WFRQAPGQEREFVAGIGW
 SGGDTLYADSVRGRFTNSRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAARQGQYIYSSMRSD
 SYDYWGQGT LVT VSS (SEQ ID NO: 7). Связывающий домен антитела к C5 также
 содержит три последовательности CDR: первую CDR (CDR1), характеризующуюся
 последовательностью: GRAHSDYAMA (SEQ ID NO: 8), вторую CDR (CDR2),
 характеризующуюся последовательностью: GIGWSGGDTLYADSVRG (SEQ ID NO: 9), и
 третью CDR (CDR3), характеризующуюся последовательностью:
 AARQGQYIYSSMRSDSYDY (SEQ ID NO: 10).

Связывающий домен антитела к HSA и связывающий домен антитела к C5
 соединены пептидным линкером, характеризующимся последовательностью:
 GGGGAGGGGAGGGGS (SEQ ID NO: 11).

Векторы, клетки-хозяева и получение белка

Слитый белок по настоящему изобретению можно получить из клетки-хозяина.
 Клетка-хозяин относится к среде-носителю, которая содержит необходимые клеточные
 компоненты, например, органеллы, необходимые для экспрессии полипептидов и слитых
 полипептидов, описанных в данном документе, из их соответствующих нуклеиновых
 кислот. Нуклеиновые кислоты можно включать в векторы нуклеиновых кислот, которые
 можно вводить в клетку-хозяина с помощью общепринятых методик, известных из уровня
 техники (например, трансформации, трансфекции, электропорации, осаждения кальция
 фосфата, прямой микроинъекции, инфицирования и т. п.). Выбор векторов нуклеиновой
 кислоты зависит отчасти от используемых клеток-хозяев. Клетки-хозяева могут
 происходить от млекопитающих, растений или микробов. В дополнение к известным
 клеткам-хозяевам млекопитающих, можно применять клетки-хозяева дрожжей, например,
Pichia pastoris, *Saccharomyces cerevisiae* и/или клетки-хозяева растений. Обычно
 предпочтительные клетки-хозяева характеризуются происхождением либо
 эукариотическим (например, от млекопитающих или дрожжей), либо прокариотическим
 (например, от бактерий).

Известно общее описание мультивалентных и мультиспецифических слитых белков,
 содержащих одно или несколько антител VHH, и их получение (Els Conrath, K. et al., *J. Biol.*
Chem., 276:7346-50, 2001; Muyldermans, S., *J. Biotechnol.*, 74:277-302 2001; международные

публикации №№ WO 96/34103, WO 99/23221 и WO 04/041865). Слитый белок, описанный в данном документе, можно экспрессировать из конструкций, которые содержат, например, один или несколько элементов, таких как векторы экспрессии (WO 04/041862), или он может быть ассоциирован с ними.

Конструкция вектора нуклеиновой кислоты и клетки-хозяева

Последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующую слитый белок, описанный в данном документе, можно получать с помощью множества способов, известных из уровня техники. Данные способы включают без ограничения олигонуклеотид-опосредованный (или сайт-направленный) мутагенез, ПЦР-мутагенез, лигирование и ПЦР с перекрывающимися праймерами. Молекулу нуклеиновой кислоты, кодирующую слитый белок, описанный в данном документе, можно получать с применением стандартных методик, например, синтеза генов. Молекулы нуклеиновой кислоты можно синтезировать с применением синтезатора нуклеотидов или методик ПЦР.

Последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующую слитый белок, можно вставить в вектор, способный реплицировать и экспрессировать молекулу нуклеиновой кислоты в прокариотических и эукариотических клетках-хозяевах. Многие векторы являются доступными в области техники, и их можно применять для решения задач настоящего изобретения. Каждый вектор может включать различные компоненты, которые можно регулировать и оптимизировать для совместимости с конкретной клеткой-хозяином. Например, компоненты вектора могут включать без ограничения точку начала репликации, ген селективного маркера, промотор, сайт связывания рибосом, сигнальную последовательность, последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующую белок, представляющий интерес, и последовательность терминации транскрипции.

В некоторых вариантах осуществления клетки млекопитающих можно применять в качестве клеток-хозяев для настоящего изобретения. Примеры типов клеток млекопитающих включают без ограничения человеческие эмбриональные клетки почек (НЕК) (например, НЕК293, НЕК 293F), клетки яичника китайского хомячка (CHO), HeLa, COS, PC3, Vero, MC3T3, NS0, Sp2/0, VERY, ВНК, MDCK, W138, BT483, Hs578T, НТВ2, BT20, T47D, NS0 (линия клеток миеломы мышей, которая эндогенно не продуцирует никаких цепей иммуноглобулинов), CRL7030 и HsS78Bst. В некоторых вариантах осуществления клетки дрожжей можно применять в качестве клеток-хозяев для настоящего изобретения. Иллюстративные клетки-хозяева дрожжей включают *Pichia pastoris* и *Saccharomyces cerevisiae*. В некоторых вариантах осуществления клетки *E. coli* можно также применять в качестве клеток-хозяев для настоящего изобретения. Примеры штаммов *E. coli* включают без ограничения *E. coli* 294 (ATCC® 31446), *E. coli* λ 1776 (ATCC® 31537), *E. coli* BL21 (DE3) (ATCC® BAA-1025) и *E. coli* RV308 (ATCC® 31608). Различные клетки-хозяева характеризуются характерными и специфическими механизмами для посттрансляционного процессинга и модификации продуктов белка (например, гликозилирование). Соответствующие линии клеток или системы на основе хозяина можно выбирать для обеспечения правильной модификации и процессинга экспрессируемого

полипептида. Вышеописанные векторы экспрессии можно вводить в соответствующие клетки-хозяева с применением общепринятых методик в данной области техники, например, трансформации, трансфекции, электропорации, осаждения фосфатом кальция и прямой микроинъекции. После введения векторов в клетки-хозяева для получения белка клетки-хозяева культивируют в обычных питательных средах, модифицированных соответствующим образом для индуцирования промоторов, отбора трансформантов или амплификации генов, кодирующих требуемые последовательности. Способы для экспрессии терапевтических белков известны из уровня техники, см., например, Paulina Balbas, Argelia Lorence (eds.) *Recombinant Gene Expression: Reviews and Protocols (Methods in Molecular Biology)*, Humana Press; 2nd ed. 2004 и Vladimir Voynov and Justin A. Caravella (eds.) *Therapeutic Proteins: Methods and Protocols (Methods in Molecular Biology)* Humana Press; 2nd ed. 2012.

Получение белка, извлечение и очистка

Клетки-хозяева, применяемые для получения слитого белка по настоящему изобретению, могут расти в среде, известной из уровня техники и подходящей для культивирования выбранных клеток-хозяев. Примеры подходящих сред для клеток-хозяев млекопитающих включают минимальную питательную среду (MEM), среду Игла в модификации Дульбекко (DMEM), среду для экспрессии Expi293™, DMEM с добавлением эмбриональной бычьей сыворотки (FBS) и RPMI-1640. Примеры подходящих сред для бактериальных клеток-хозяев включают среду Лурия (LB) с необходимыми добавками, такими как селективное средство, например, ампициллин. Клетки-хозяева культивируют при подходящих значениях температуры, таких как от приблизительно 20°C до приблизительно 39°C, например от 25°C до приблизительно 37°C, предпочтительно 37°C, и уровнях CO₂, таких как от 5 до 10%. pH среды обычно составляет от приблизительно 6,8 до 7,4, например 7,0, главным образом в зависимости от организма хозяина. Если индуцируемый промотор применяют для вектора экспрессии по настоящему изобретению, экспрессию белка индуцируют в условиях, подходящих для активации промотора.

В некоторых вариантах осуществления в зависимости от применяемых вектора экспрессии и клеток-хозяев экспрессируемый белок может секретироваться из клеток-хозяев (например, клеток-хозяев млекопитающих) в среде для культивирования клеток. Извлечение белка может включать фильтрование среды для культивирования клеток для удаления клеточного дебриса. Белки можно дополнительно очищать. Слитый белок можно очищать с помощью способа, известного из уровня техники очистки белка, например, с помощью хроматографии (например, ионнообменной, аффинной и эксклюзионной колоночной хроматографии), центрифугирования, с использованием дифференциальной растворимости или с помощью любой другой стандартной методики для очистки белков. Например, белок можно выделить и очистить с помощью соответствующим образом выбранных и комбинированных колонок для аффинной хроматографии, таких как колонка белка А (например, хроматография на основе белка А POROS) с колонками для хроматографии (например, катионообменной хроматографии HS-50 POROS), фильтрации,

ультрафильтрации, процедур высаливания и диализа.

В других вариантах осуществления клетки-хозяева можно разрушить, например, с помощью осмотического шока, обработки ультразвуком или лизиса для извлечения экспрессируемого белка. После разрушения клеток клеточный дебрис можно удалить центрифугированием или фильтрацией. В некоторых случаях полипептид можно конъюгировать с маркерными последовательностями, такими как пептид, для облегчения очистки. Пример маркерной аминокислотной последовательности представляет собой гексагистидиновый пептид (His-метка), который связывается с колонкой с функционализированной никелем агарозой для аффинной хроматографии с микромолярной аффинностью. Другие пептидные метки, применимые для очистки, включают без ограничения гемагглютининовую метку "НА", которая соответствует эпитопу, полученному из белка гемагглютинина вируса гриппа (Wilson et al., *Cell* 37:767, 1984).

В качестве альтернативы, слитый белок, описанный в данном документе, можно получать с помощью клеток субъекта (например, человека), например, в контексте генной терапии путем введения вектора (такого как вирусный вектор (например, ретровирусный вектор, аденовирусный вектор, поксвирусный вектор (например, вектор вакцины против вируса, такой как модифицированный вирус осповакцины Анкара (MVA)), аденоассоциированный вирусный вектор и альфавирусный вектор)), содержащий молекулу нуклеиновой кислоты, кодирующую слитый белок по настоящему изобретению. Вектор, попав внутрь клетки субъекта (например, посредством трансформации, трансфекции, электропорации, осаждения фосфатом кальция, прямой микроинъекции, инфицирования и т. д.), будет способствовать экспрессии полипептида, который затем секретируется из клетки. Если лечение заболевания или нарушения представляет собой требуемый исход, никакого дополнительного действия может не потребоваться. Если сбор белка является требуемым, у субъекта можно собрать кровь и белок, очищенный из крови способами, известными из уровня техники.

Фармацевтические композиции

Слитый белок, описанный в данном документе (например, слитый белок, характеризующийся последовательностью SEQ ID NO: 1), можно включить в среду-носитель для введения пациенту, такому как пациент-человек, страдающий дерматомиозитом. Фармацевтические композиции, содержащие слитый белок, можно получить с применением способов, известных из уровня техники. Например, такие композиции можно получить с применением, например, физиологически приемлемых носителей, вспомогательных веществ или стабилизаторов (Remington: The Science and Practice of Pharmacology 22nd edition, Allen, L. Ed. (2013); включенная в данный документ посредством ссылки) и в любой требуемой форме, например, в форме лиофилизированных составов или водных растворов.

Смеси, содержащие слитый белок, описанный в данном документе, можно готовить в воде, подходящим образом смешанной с одним или несколькими вспомогательными

веществами, носителями или разбавителями. Дисперсии также можно готовить в глицерине, жидких полиэтиленгликолях и их смесях и в маслах. В обычных условиях хранения и применения данные препараты могут содержать консервант для предупреждения роста микроорганизмов. Фармацевтические формы, подходящие для инъекционного применения, включают стерильные водные растворы или дисперсии или стерильные порошки для экстемпорального приготовления стерильных растворов и дисперсий для инъекций (описанных в US 5466468, раскрытие которого включено в данный документ посредством ссылки). В любом случае состав может быть стерильным и может быть жидким до такой степени, чтобы существовала возможность легкого введения через шприц. Составы могут быть стабильными в условиях изготовления и хранения, и их можно предохранить от контаминационного действия микроорганизмов, таких как бактерии и грибы. Носитель может представлять собой растворитель или дисперсионную среду, содержащую, например, воду, этанол, полиол (например, глицерин, пропиленгликоль, жидкий полиэтиленгликоль и т. п.), их подходящие смеси и/или растительные масла. Надлежащую текучесть можно поддерживать, например, путем применения такого средства для эмульгирования, как лецитин, путем поддержания требуемого размера частиц в случае дисперсии и путем применения поверхностно-активных веществ. Предупреждение действия микроорганизмов можно обеспечить с помощью различных антибактериальных и противогрибковых средств, например, парабенов, хлорбутанола, фенола, сорбиновой кислоты, тимеросала и т. п. Во многих случаях будет предпочтительным включать изотонические средства, например, сахара или хлорид натрия. Пролонгированную абсорбцию композиций для инъекций можно обеспечить путем применения в композициях средств, замедляющих абсорбцию, например, алюминия моностеарата и желатина.

Приемлемые материалы состава можно применять для модификации, поддержания или сохранения, например pH, осмолярности, вязкости, чистоты, цвета, изотоничности, запаха, стерильности, стабильности, скорости растворения или высвобождения, адсорбции или проникновения композиции. Приемлемые материалы состава включают без ограничения аминокислоты (такие как глицин, глутамин, аспарагин, аргинин или лизин), противомикробные препараты, антиоксиданты (такие как аскорбиновая кислота, сульфит натрия или гидросульфит натрия), буферы (такие как борат, бикарбонат, Tris-HCl, цитраты, фосфаты или другие органические кислоты), объемобразующие средства (такие как маннит или глицин), хелатирующие средства (такие как этилендиаминтетрауксусная кислота (EDTA)), комплексообразователи (такие как кофеин, поливинилпирролидон, бета-циклодекстрин или гидроксипропилбета-циклодекстрин), наполнители, моносахариды, дисахариды и другие углеводы (такие как глюкоза, манноза или декстрины), белки (такие как сывороточный альбумин, желатин или иммуноглобулины), красители, ароматизаторы и разбавители, эмульгаторы, гидрофильные полимеры (такие как поливинилпирролидон), низкомолекулярные полипептиды, солеобразующие противоионы (такие как натрий), консерванты (такие как хлорид бензалкония, бензойная кислота, салициловая кислота, тимеросал, фенетиловый спирт, метилпарабен, пропилпарабен, хлоргексидин, сорбиновая

кислота или перекись водорода), растворители (такие как глицерин, пропиленгликоль или полиэтиленгликоль), сахароспирты (такие как маннит или сорбит), суспендирующие средства, поверхностно-активные вещества или смачивающие средства (такие как плуроники; PEG; сложные эфиры сорбитана; полисорбаты, такие как полисорбат 20 или полисорбат 80; тритон; трометамин; лецитин; холестерин или тилоксапал), средства, повышающие стабильность (такие как сахароза или сорбит), средства, повышающие тоничность (такие как галиды щелочных металлов, предпочтительно хлорид натрия или калия, или маннит, сорбит), среды-носители для доставки, разбавители, вспомогательные вещества и/или фармацевтические адьюванты (см., например, Remington: The Science and Practice of Pharmacology 22nd edition, Allen, L. Ed. (2013); включенная в данный документ посредством ссылки).

Специалист в данной области может разработать фармацевтическую композицию, содержащую слитый белок, описанный в данном документе, в зависимости от, например, предполагаемого пути введения, формата доставки и требуемой дозировки. Фармацевтические композиции, описанные в данном документе, могут включать один или несколько средств для улучшения, например, доставки терапевтического средства. Средства, которые подвергают разрушению гиалуронан, например, можно включать в фармацевтические композиции, описанные в данном документе, или такие средства можно совместно вводить с фармацевтическими композициями, описанными в данном документе, для облегчения, например, дисперсии и абсорбции терапевтических средств, описанных в данном документе, при введении. Пример такого средства представляет собой рекомбинантную гиалуронидазу.

Дополнительные фармацевтические композиции будут очевидны для специалистов в данной области техники, в том числе составы, включающие составы с устойчивой доставкой или контролируемой доставкой. Специалистам в данной области техники известны методики для составления составов с устойчивой доставкой или контролируемой доставкой с применением, например, липосом в качестве носителей, биоразлагаемых микрочастиц или пористых шариков и инъекций вещества замедленного всасывания.

Раствор, содержащий фармацевтическую композицию, описанную в данном документе, можно подходящим образом забуферить при необходимости и жидкий разбавитель сначала изотонизировать достаточным количеством физиологического раствора или глюкозы. Данные конкретные водные растворы являются особенно подходящими для внутривенного, внутримышечного, подкожного и внутрибрюшинного введения. В этой связи стерильные водные среды, которые можно использовать, будут известны специалистам в данной области техники в свете настоящего изобретения. Например, одну дозу можно растворить в 1 мл изотонического раствора NaCl и либо добавить к 1000 мл жидкости для гиподермоклиза, либо ввести в предполагаемое место инфузии. Некоторые вариации в дозировке обязательно будут случаться в зависимости от состояния субъекта, которого лечат. Человек, ответственный за введение, в любом случае будет определять соответствующую дозу для отдельного субъекта. Кроме того, для

введения человеку препараты могут соответствовать стандартам стерильности, пирогенности, общей безопасности и чистоты, как требует офис FDA по биологическим стандартам.

Способы лечения

Композиции, описанные в данном документе, можно вводить субъекту, имеющему дерматомиозит, или с подозрением на его наличие различными путями, такими как внутривенное, парентеральное, интрадермальное, трансдермальное, внутримышечное, интраназальное, подкожное, чрескожное, эндотрахеальное, внутрибрюшинное, внутриартериальное, внутрисосудистое, ингаляционное, перфузионное введение, лаваж и пероральное введение. Композицию также можно вводить местно (например, на участок кожи с сыпью). В некоторых вариантах осуществления композицию вводят подкожно (например, путем подкожной инъекции или инфузии). Наиболее подходящий путь для введения в любом конкретном случае будет зависеть от конкретной вводимой композиции, пациента, способов получения фармацевтического состава, способов введения (например, время введения и путь введения), возраста пациента, веса тела, пола, тяжести заболевания, которое лечат, питания пациента и скорости экскреции пациента. Композиции можно вводить один раз или больше чем один раз (например, один раз в год, два раза в год, три раза в год, раз в два месяца, раз в месяц, раз в две недели или раз в неделю).

Субъектами, которых можно лечить, как описано в данном документе, являются субъекты, имеющие дерматомиозит (например, субъекты, у которых выявлен дерматомиозит), и субъекты с подозрением на наличие дерматомиозита, в том числе дерматомиозита взрослых, ювенильного дерматомиозита и амиопатического дерматомиозита (также известного как дерматомиозит без миозита). В некоторых вариантах осуществления дерматомиозит ассоциирован с раком (дерматомиозит, ассоциированный со злокачественными опухолями), который может предшествовать появлению дерматомиозита, случаться в связи с ним или развиваться после него. Если у субъекта подозревают дерматомиозит, для помощи в диагностике можно выполнить один или несколько из следующих тестов: анализ крови для измерения мышечных ферментов, ассоциированных с повреждением мышц (например, креатинкиназы), или для обнаружения аутоантител, рентгенография грудной клетки, электромиография, магнитно-резонансная томография (МРТ), биопсия кожи или биопсия мышц. Лечение дерматомиозита может приводить к улучшению в отношении симптомов дерматомиозита. Например, лечение с помощью слитого белка, описанного в данном документе, может обеспечивать лечение аномалий кожи (например, сыпь), ассоциированных с дерматомиозитом, и/или аномалий мышц (например, мышечная слабость и/или атрофия), ассоциированных с дерматомиозитом. В некоторых вариантах осуществления композиции и способы, описанные в данном документе, могут уменьшать или устранять аномалии кожи, например, уменьшать масштабы сыпи, ассоциированной с дерматомиозитом (уменьшать количество кожи с сыпью), уменьшать боль, ассоциированную с сыпью, уменьшать зуд, ассоциированный с сыпью, и/или уменьшать шелушение, сухость или шероховатость кожи,

ассоциированные с дерматомиозитом. В некоторых вариантах осуществления композиции и способы, описанные в данном документе, уменьшают мышечную слабость и/или атрофию (например, улучшают мышечную силу). Композиции и способы, описанные в данном документе, можно также применять для замедления или подавления прогрессирования заболевания (например, для замедления или подавления ослабления и/или атрофии мышц). В некоторых вариантах осуществления композиции и способы, описанные в данном документе, предупреждают или уменьшают другие симптомы дерматомиозита, такие как мышечная боль, чувствительность в мышцах, ригидность мышц, воспаление мышц, развитие контрактур, воспаленные или отекающие участки вокруг ногтей, затрудненное глотание (дисфагия), трудность с артикуляцией речи (дисфония), проблемы с дыханием, образование твердых отложений кальция в мышцах, коже или соединительной ткани, боль в суставах, утомляемость, необъяснимая потеря веса или лихорадка. Композиции и способы, описанные в данном документе, также могут предупредить развитие, уменьшить возможность развития или уменьшить тяжесть состояний, ассоциированных с дерматомиозитом, таких как феномен Рейно, другие заболевания соединительной ткани, сердечно-сосудистые заболевания (например, воспаление сердечной мышцы), заболевания легких (например, интерстициальная болезнь легких) или рак (например, рак яичника, рак легкого, рак яичка или рак желудочно-кишечного тракта). Аномалии кожи (например, сыпь) можно оценить с применением визуального осмотра или биопсии кожи и аномалии мышц (например, мышечную слабость и/или атрофию) можно оценить путем мониторинга за выполнением задач, которые могут быть нарушены у субъектов, страдающих дерматомиозитом (например, походка, поднятие рук, подъем по ступенькам, одевание, поднятие головы с подушки, подъем без посторонней помощи с пола), с помощью измерения уровня мышечных ферментов в крови, которые могут указывать на повреждение мышц (например, креатинкиназы, альдолазы, аспартатаминотрансферазы или лактатдегидрогеназы) или с помощью выполнения электромиографии или биопсии мышц. Аномалии кожи и/или аномалии мышц можно оценивать перед и после лечения с помощью композиций, описанных в данном документе, для мониторинга ответа на лечение.

Лечение может включать введение композиции, содержащей слитый белок, описанный в данном документе, в различных однократных дозах. Каждая однократная доза будет обычно содержать предварительно определенное количество терапевтической композиции. Вводимое количество и конкретный путь введения и состав находятся в пределах компетенции специалистов в данной области техники. Однократную дозу необязательно вводить в виде однократной инъекции, но введение может предусматривать непрерывную инфузию в течение установленного периода времени. Композиция может включать дозу слитого белка по настоящему изобретению в диапазоне от 0,5 мг/кг до 50 мг/кг (например, 1,0, 2,0, 3,0, 4,0, 5,0, 6,0, 7,0, 8,0, 9,0, 10,0, 12,0, 15,0, 18,0, 20,0, 25,0, 30,0, 35,0, 40,0, 45,0 или 50,0 мг/кг). В некоторых вариантах осуществления количество слитого белка, вводимого субъекту, составляет от приблизительно 10 мг до приблизительно 3000 мг (например, приблизительно 10 мг, 25 мг, 50 мг, 75 мг, 100 мг, 125 мг, 150 мг, 175 мг, 200

мг, 225 мг, 250 мг, 275 мг, 300 мг, 325 мг, 350 мг, 375 мг, 400 мг, 425 мг, 450 мг, 475 мг, 500 мг, 550 мг, 600 мг, 650 мг, 700 мг, 750 мг, 800 мг, 850 мг, 900 мг, 950 мг, 1000 мг, 1100 мг, 1200 мг, 1300 мг, 1400 мг, 1500 мг, 1600 мг, 1700 мг, 1800 мг, 1900 мг, 2000 мг, 2100 мг, 2200 мг, 2300 мг, 2400 мг, 2500 мг, 2600 мг, 2700 мг, 2800 мг, 2900 мг или 3000 мг). Дозу может адаптировать врач в соответствии с общепринятыми факторами, такими как степень заболевания и различные параметры субъекта.

Композиции, описанные в данном документе, вводят в количестве, достаточном для улучшения в отношении одного или нескольких симптомов дерматомиозита (например, аномалий кожи, таких как сыпь или шелушение, сухая или шероховатая кожа, аномалий мышц, таких как мышечная слабость, мышечная атрофия, мышечная боль, чувствительность в мышцах, ригидность мышц или воспаление мышц, воспаленных или опухших участков вокруг ногтей, развития контрактур, затрудненного глотания (дисфагия), трудности с артикуляцией речи (дисфония), проблем с дыханием, образования твердых отложений кальция в мышцах, коже или соединительной ткани, боли в суставах, усталости, необъяснимой потери веса или лихорадки) или для замедления или подавления прогрессирования заболевания (например, прогрессирующего ослабления или атрофии мышц). Данные эффекты могут возникать, например, в течение 1 недели, 2 недель, 3 недель, 4 недель, 5 недель, 6 недель, 7 недель, 8 недель, 9 недель, 10 недель, 15 недель, 20 недель, 25 недель или более после введения композиций, описанных в данном документе. В зависимости от исхода оценки пациент может получать дополнительные виды лечения.

Композиции, описанные в данном документе, могут вводиться медицинским работником или самостоятельно. Для самостоятельного введения композицию можно включать в медицинское устройство, такое как автоинъектор или предварительно заполненный шприц. В некоторых вариантах осуществления медицинское устройство представляет собой носимое устройство, такое как носимый инъектор. Иллюстративные носимые инъекторы включают инъекторы SmartDose®, разработанные West Pharmaceutical Services, которые можно применять для предварительно запрограммированной подкожной инъекции, и носимый инъектор BD Libertas™. В некоторых вариантах осуществления медицинское устройство является носимым инфузионным устройством, таким как инфузионное устройство, произведенное Enable Injections, для обеспечения подкожного самостоятельного введения терапевтических средств в большом объеме. Композиции могут содержаться в картридже для загрузки в автоинъектор или носимый инъектор.

Слитый белок, описанный в данном документе, можно вводить в комбинации с дополнительным средством терапии. В некоторых вариантах осуществления средство терапии представляет собой лекарственный препарат, используемый в настоящее время для лечения дерматомиозита, такой как кортикостероид (например, преднизон), иммуносупрессивное средство (например, азатиоприн, метотрексат, микофенолата мофетил, циклофосфамид, такролимус или циклоспорин), ритуксимаб или противомаларийное лекарственное средство (например, гидроксихлорохин). Слитый белок также можно вводить в комбинации с внутривенным иммуноглобулином (IVIg) или

вводить субъекту в комбинации с хирургическим вмешательством для удаления отложений кальция. В некоторых вариантах осуществления терапия представляет собой физиотерапию, модификацию питания, логопедию или избегание и/или защиту от солнца (например, применение солнцезащитного крема). Совместное введение слитого белка, описанного в данном документе, и дополнительного средства терапии может быть одновременным (например, осуществление введения одновременно или в одной фармацевтической композиции), отдельным или последовательным (например, слитый белок, описанный в данном документе, можно вводить до или после дополнительного средства терапии).

Наборы

Композиция, содержащая слитый белок, описанный в данном документе, может быть представлена в наборе для применения в лечении дерматомиозита. Набор может дополнительно включать этикетку или листок-вкладыш, который инструктирует пользователя набора, такого как субъект, имеющий дерматомиозит, или врач, выполнять способы, описанные в данном документе. В некоторых вариантах осуществления набор включает контейнер с этикеткой и композицию, содержащую слитый белок, описанный в данном документе, и на этикетке указано, что композиция подлежит введению пациенту, имеющему дерматомиозит, или с подозрением на его наличие. Набор может необязательно включать шприц или другое устройство (например, автоинъектор, предварительно заполненный шприц или носимое устройство) для введения композиции. В некоторых вариантах осуществления набор включает как первый контейнер с высушенным белком, так и второй контейнер с водным составом. В других вариантах осуществления набор включает одно- или многокамерные предварительно заполненные шприцы (например, шприцы для введения жидких составов и шприцы с лиофилизатом). В некоторых вариантах осуществления набор включает картриджи, содержащие композицию по настоящему изобретению для применения с медицинским устройством (например, автоинъектором или носимым устройством).

Примеры

Следующие примеры приведены для того, чтобы предоставить специалистам в данной области техники описание того, как композиции и способы, описанные в данном документе, можно применять, получать и оценивать, и они предназначены быть исключительно иллюстративными по настоящему изобретению и не предназначены для ограничения объема того, что изобретатели считают своим изобретением.

Пример 1. Введение композиции, содержащей слитый белок VHH к HSA-VHH к C5

В соответствии со способами, раскрытыми в данном документе, специалист в данной области техники может лечить пациента, такого как пациент-человек, с дерматомиозитом для уменьшения одного или нескольких симптомов дерматомиозита (например, уменьшения сыпи, ассоциированной с дерматомиозитом, или уменьшения мышечной слабости и/или атрофии) или замедления прогрессирования заболевания. С этой целью специалист в данной области техники может вводить пациенту-человеку

композицию, содержащую слитый белок, характеризующийся последовательностью под SEQ ID NO: 1. Композицию, содержащую слитый белок, можно вводить пациенту, например, посредством инъекции, такой как внутривенная или подкожная инъекция. Композиция может быть представлена в медицинском устройстве, таком как автоинъектор или носимое медицинское устройство, чтобы пациент мог самостоятельно ввести композицию. Слитый белок вводят в терапевтически эффективном количестве, как, например, от 0,5 мг/кг до 50 мг/кг (например, 1,0, 2,0, 3,0, 4,0, 5,0, 6,0, 7,0, 8,0, 9,0, 10,0, 12,0, 15,0, 18,0, 20,0, 25,0, 30,0, 35,0, 40,0, 45,0 или 50,0 мг/кг) или от 10 мг до 3000 мг (например, приблизительно 10 мг, 25 мг, 50 мг, 75 мг, 100 мг, 125 мг, 150 мг, 175 мг, 200 мг, 225 мг, 250 мг, 275 мг, 300 мг, 325 мг, 350 мг, 375 мг, 400 мг, 425 мг, 450 мг, 475 мг, 500 мг, 550 мг, 600 мг, 650 мг, 700 мг, 750 мг, 800 мг, 850 мг, 900 мг, 950 мг, 1000 мг, 1100 мг, 1200 мг, 1300 мг, 1400 мг, 1500 мг, 1600 мг, 1700 мг, 1800 мг, 1900 мг, 2000 мг, 2100 мг, 2200 мг, 2300 мг, 2400 мг, 2500 мг, 2600 мг, 2700 мг, 2800 мг, 2900 мг или 3000 мг. Слитый белок вводят в количестве, достаточном для уменьшения одного или нескольких симптомов дерматомиозита и/или замедления прогрессирования заболевания.

После введения композиции пациенту специалист в данной области техники может отслеживать улучшение ответа пациента на терапию с помощью множества способов. Например, врач может отслеживать сыпь пациента с применением визуального осмотра или биопсии кожи и мышечную слабость путем мониторинга за выполнением задач пациента, которые, как правило, нарушены при дерматомиозите (например, походка, поднятие рук, подъем по ступенькам, одевание, поднятие головы с подушки, подъем без посторонней помощи с пола), с помощью измерения уровня мышечных ферментов в крови, которые могут указывать на повреждение мышц (например, креатинкиназы) или с помощью выполнения электромиографии или биопсии мышц. Обнаружение того, что у пациента наблюдается уменьшение сыпи, мышечной слабости и/или мышечной атрофии после введения композиции или что заболевание не прогрессирует, указывает на то, что пациент положительно реагирует на лечение. Последующие дозы можно определить и вводить при необходимости.

Другие варианты осуществления

Хотя изобретение было описано в связи с его конкретными вариантами осуществления, следует понимать, что оно допускает дополнительные модификации, и эта заявка предназначена для охвата любых вариаций, способов применения или адаптаций настоящего изобретения, следующих, в целом, принципам настоящего изобретения и включая такие отступления от настоящего изобретения, которые относятся к известной или общепринятой практике в области техники, к которой относится настоящее изобретение, и могут быть применены к существенным признакам, указанным выше, и изложенным в объеме формулы изобретения. Другие варианты осуществления включены в формулу изобретения.

Заявляется:

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ лечения субъекта, имеющего дерматомиозит, или с подозрением на его наличие, включающий введение субъекту фармацевтической композиции, содержащей терапевтически эффективное количество слитого белка, характеризующегося последовательностью под SEQ ID NO:1, и фармацевтически приемлемый носитель.

2. Медицинское устройство для лечения субъекта, имеющего дерматомиозит, или с подозрением на его наличие, при этом медицинское устройство содержит фармацевтическую композицию, содержащую слитый белок с SEQ ID NO:1 и фармацевтически приемлемый носитель.

3. Медицинское устройство по п. 2, где устройство представляет собой автоинъектор или предварительно заполненный шприц.

4. Медицинское устройство по п. 3, где предварительно заполненный шприц представляет собой многокамерный предварительно заполненный шприц или шприц с лиофилизатом.

5. Медицинское устройство по п. 2, где устройство представляет собой носимое устройство.

6. Терапевтический набор, содержащий:

(a) контейнер с этикеткой и

(b) композицию, содержащую слитый белок с SEQ ID NO:1 и фармацевтически приемлемый носитель;

где на этикетке указано, что композиция подлежит введению субъекту, имеющему дерматомиозит, или с подозрением на его наличие.

По доверенности