



## (12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента  
2024.10.22

(21) Номер заявки  
202190645

(22) Дата подачи заявки  
2019.08.30

(51) Int. Cl. *A61P 7/10* (2006.01)  
*C07K 16/40* (2006.01)

---

(54) ИНГИБИТОРЫ КАЛЛИКРЕИНА ПЛАЗМЫ И ИХ ПРИМЕНЕНИЯ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ПРИСТУПА НАСЛЕДСТВЕННОГО АНГИОНЕВРОТИЧЕСКОГО ОТЕКА

---

(31) 62/725,216; 62/808,612

(32) 2018.08.30; 2019.02.21

(33) US

(43) 2021.06.25

(86) PCT/US2019/048961

(87) WO 2020/047352 2020.03.05

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:  
ТАКЕДА ФАРМАСЬЮТИКАЛ  
КОМПАНИ ЛИМИТЕД (JP)

(72) Изобретатель:  
Лу Пэн, Нерз Кристина, Хао Синьмин  
(US)

(74) Представитель:  
Медведев В.Н. (RU)

(56) ALEENA BANERJI ET AL.: "Inhibiting Plasma Kallikrein for Hereditary Angioedema Prophylaxis", THE NEW ENGLAND JOURNAL OF MEDICINE, - NEJM -, vol. 376, no. 8, 23 February 2017 (2017-02-23), pages 717-728, XP55645691, US ISSN: 0028-4793, DOI: 10.1056/NEJMoal605767

PAULA J. BUSSE ET AL.: "Efficacy and safety of lanadelumab for prophylactic treatment in adolescents with hereditary angioedema (HAE)", JOURNAL OF ALLERGY AND CLINICAL IMMUNOLOGY, vol. 143, no. 2, 1 February 2019 (2019-02-01), page AB43, XP055645672, AMSTERDAM, NL ISSN: 0091-6749, DOI: 10.1016/j.jaci.2018.12.131, the whole document  
WO-A1-2016160926

CHYUNG YUNG ET AL.: "A phase 1 study investigating DX-2930 in healthy subjects", ANNALS OF ALLERGY, ASTHMA & IMMUNOLOGY, ARLINGTON HEIGHTS, IL, US, vol. 113, no. 4, 26 June 2014 (2014-06-26), page 460, XP029068455, ISSN: 1081-1206, DOI: 10.1016/J.ANAI.2014.05.028

MARCA RIEDL ET AL.: "An open-label study to evaluate the long-term safety and efficacy of lanadelumab for prevention of attacks in hereditary angioedema: design of the HELP study extension", CLINICAL AND TRANSLATIONAL ALLERGY, BIOMED CENTRAL LTD, LONDON, UK, vol. 7, no. 1, 6 October 2017 (2017-10-06), pages 1-10, XP021249613, DOI: 10.1186/S13601-017-0172-9

BANERJI ALEENA ET AL.: "Effect of Lanadelumab Compared With Placebo on Prevention of Hereditary Angioedema Attacks: A Randomized Clinical Trial.", JAMA 27 11 2018, vol. 320, no. 20, 27 November 2018 (2018-11-27), pages 2108-2121, XP002795979, ISSN: 1538-3598

B. WEDI: "Lanadelumab to treat hereditary angioedema", DRUGS OF TODAY, vol. 55, no. 7, 1 January 2019 (2019-01-01), page 439, XP55645213, ES ISSN: 1699-3993, DOI: 10.1358/dot.2019.55.7.2985293

MADDALENA ALESSANDRA WU: "Lanadelumab for the treatment of hereditary angioedema", EXPERT OPINION ON BIOLOGICAL THERAPY, vol. 19, no. 12, 4 November 2019 (2019-11-04), pages 1233-1245, XP55645232, ASHLEY, LONDON; GB ISSN: 1471-2598, DOI: 10.1080/14712598.2019.1685490

MARIA BOVA ET AL.: "Lanadelumab Injection Treatment For The Prevention Of Hereditary Angioedema (HAE): Design, Development And Place In Therapy", DRUG DESIGN, DEVELOPMENT AND THERAPY, vol. Volume 13, 1 October 2019 (2019-10-01), pages 3635-3646, XP55645335, DOI: 10.2147/DDDT.S192475

(57) Изобретение относится к способам лечения и предотвращения приступа наследственного ангионевротического отека в конкретных субпопуляциях пациентов-людей с использованием антитела, связывающего активный калликреин плазмы, с использованием конкретных режимов лечения, например, при приблизительно 300 мг каждые две недели. Иллюстративные субпопуляции пациентов-людей включают пациентов женского пола, пациентов в возрасте менее 18 лет, между 40 и менее чем 65 лет, пациентов-подростков, пациентов, имевших один или несколько предшествующих приступов в гортани, пациентов, имевших между 1 и 2, 2 и 3 или более 3 приступов НАЕ за четыре недели, предшествующие первой дозе из первого периода лечения; и/или подвергнутых лечению ингибитором C1, предшествующим первому периоду лечения.

### Родственные заявки

По изобретению по 35 U.S.C. § 119(e) испрашивается приоритет согласно предварительной патентной заявке США номер 62/725216, поданной 30 августа 2018 г., и предварительной патентной заявке США номер 62/808612, поданной 21 февраля 2019 г., полное содержание каждой из которых приведено в настоящем описании посредством ссылки.

### Уровень техники

Калликреин плазмы представляет собой компонент сериновой протеазы контактной системы и потенциальную мишень для лекарственного средства против различных воспалительных, сердечно-сосудистых, инфекционных (сепсиса) и онкологических заболеваний (Sainz I.M. et al., *Thromb Haemost* 98, 77-83, 2007). Контактная система активируется либо посредством фактора XIIa при воздействии чужеродных или отрицательно заряженных поверхностей, либо на поверхностях эндотелиальных клеток посредством пролилкарбоксипептидаз (Sainz I.M. et al., *Thromb Haemost* 98, 77-83, 2007). Активация калликреина плазмы усиливает внутренний путь активации свертывания крови посредством обратной петли активации фактора XII и усиливает воспаление посредством продукции провоспалительного нонапептида брадикинина. В качестве первичной кининогеназы в кровотоке, калликреин плазмы является в большой степени ответственным за образование брадикинина в сосудистой сети. Генетическая недостаточность белка ингибитора C1 (C1-INH), главного природного ингибитора калликреина плазмы, приводит к наследственному ангионевротическому отеку (НАЕ). Пациенты с НАЕ страдают от острых приступов болезненного отека, часто провоцируемых неизвестными запускающими факторами (Zuraw B.L. et al., *N Engl J Med* 359, 1027-1036, 2008).

### Сущность настоящего изобретения

Настоящее изобретение относится к режимам лечения приступа наследственного ангионевротического отека (НАЕ), уменьшения частоты приступов НАЕ или блокирования приступа НАЕ с использованием антител, способных связывать и ингибировать калликреин плазмы человека (pKal) в активной форме, например, антител, имеющих такие же определяющие комплементарность области (CDR), как DX-2930 (также известное как SHP643, ланаделумаб).

В некоторых аспектах, настоящее изобретение относится к способам лечения приступа наследственного ангионевротического отека (НАЕ) или уменьшения частоты приступов НАЕ, включающим введение (например, подкожно) нуждающемуся в этом субъекту-человеку любого из антител, описанных в настоящем описании (например, DX-2930). В некоторых вариантах осуществления, антитело вводят субъекту в множественных дозах приблизительно 300 мг каждые две недели в первом периоде лечения. В некоторых вариантах осуществления, субъект имеет, как подозревают, имеет, или подвержен риску развития НАЕ и является женщиной; в возрасте менее 18 лет или в возрасте между 40 и 65 лет; и/или испытал по меньшей мере один предшествующий приступ НАЕ гортани.

В некоторых аспектах, настоящее изобретение относится к способам лечения приступа наследственного ангионевротического отека (НАЕ) или уменьшения частоты приступов НАЕ, включающим введение (например, подкожно) нуждающемуся в этом субъекту-человеку любого из антител, описанных в настоящем описании (например, DX-2930). В некоторых вариантах осуществления, антитело вводят субъекту при приблизительно 150 мг каждые четыре недели, при приблизительно 300 мг каждые четыре недели или при приблизительно 300 мг каждые две недели. В некоторых вариантах осуществления, субъект является подростком в возрасте между 12 и 18 лет.

Любой из способов, описанных в настоящем описании, может дополнительно включать введение субъекту антитела в течение второго периода лечения после первого периода лечения. В некоторых вариантах осуществления, первую дозу из второго периода лечения вводят приблизительно через две недели после последней дозы из первого периода лечения. В некоторых вариантах осуществления, второй период лечения включает одну или несколько доз антитела при приблизительно 300 мг. В некоторых вариантах осуществления, второй период лечения включает множественные дозы антитела при приблизительно 300 мг каждые две недели.

Любой из способов, описанных в настоящем описании, может дополнительно включать (а) введение субъекту-человеку антитела в однократной дозе приблизительно 300 мг после первого периода лечения; и (b) дополнительное введение субъекту антитела в одной или нескольких дозах приблизительно 300 мг, если субъект испытывает приступ НАЕ после (а). В некоторых вариантах осуществления, на стадии (b), субъекту вводят антитело в множественных дозах при приблизительно 300 мг каждые две недели. В некоторых вариантах осуществления, первую дозу из стадии (b) вводят в пределах одной недели после приступа НАЕ. В некоторых вариантах осуществления, однократная доза из (а) и первая доза (b) отделены по меньшей мере 10 сутками.

В любом из способов, описанных в настоящем описании, субъект-человек может иметь НАЕ типа I или типа II. Например, субъект может испытывать по меньшей мере два приступа НАЕ за год, предшествующий первому периоду лечения. В некоторых вариантах осуществления, субъект имел по меньшей мере один приступ НАЕ за четыре недели, предшествующие первой дозе из первого периода лечения, или по меньшей мере два приступа НАЕ за восемь недель, предшествующих первой дозе из первого периода лечения.

В некоторых вариантах осуществления, субъекта, подлежащего лечению любым из способов, описанных в настоящем описании, включающими использование любого из антител против рKα1, описанных в настоящем описании (например, DX-2930), подвергали одному или нескольким видам лечения НАЕ, предшествующим первой дозе антитела против рKα1. Такие предшествующие виды лечения НАЕ могут включать ингибитор С1 (например, С1-INH), ингибитор калликреина плазмы (например, экалангид), антагонист рецептора брадикинина (например, икатибант), андроген (например, даназол), противофибринолитическое средство (например, транексамовую кислоту) или их комбинацию. Такого субъекта можно подвергать периоду снижения дозирования для постепенного перехода от предшествующего лечения НАЕ к лечению антителом против рKα1, описанным в настоящем описании. В некоторых примерах, период снижения дозирования составляет приблизительно 2-4 недели. Предшествующее лечение НАЕ можно прекращать либо до первой дозы антитела, либо в пределах трех недель после введения первой дозы антитела субъекту. Альтернативно, субъекта можно непосредственно переводить от любого из предшествующих видов лечения НАЕ к лечению антителом против рKα1, как описано в настоящем описании.

В некоторых вариантах осуществления, субъекта не подвергали лечению НАЕ, предшествующему первой дозе антитела против рKα1. В некоторых вариантах осуществления, субъект является свободным от предшествующего лечения НАЕ по меньшей мере две недели до первой дозы антитела.

В некоторых вариантах осуществления, субъект является свободным от длительной профилактики НАЕ, или лечения НАЕ, включающего ингибитор ангиотензинпревращающего фермента (ACE), содержащего эстроген лекарственного средства или андрогена, предшествующих первому периоду лечения, во время первого периода лечения и/или во время второго периода лечения.

В некоторых вариантах осуществления, антитело представляет собой полноразмерное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент. В некоторых примерах, антитело содержит вариабельную область тяжелой цепи, указанную в SEQ ID NO: 3, и/или вариабельную область легкой цепи, указанную в SEQ ID NO: 4. В некоторых примерах, антитело содержит тяжелую цепь, указанную в SEQ ID NO: 1, и легкую цепь, указанную в SEQ ID NO: 2.

В любом из способов, описанных в настоящем описании, антитело можно составлять в фармацевтическую композицию, содержащую фармацевтически приемлемый носитель. В некоторых вариантах осуществления, фармацевтическая композиция содержит фосфат натрия, лимонную кислоту, гистидин, хлорид натрия и полисорбат 80. В одном примере, фосфат натрия присутствует в концентрации приблизительно 30 мМ, лимонная кислота присутствует в концентрации приблизительно 19 мМ, гистидин присутствует в концентрации приблизительно 50 мМ, хлорид натрия присутствует в концентрации приблизительно 90 мМ, и полисорбат 80 присутствует при приблизительно 0,01%.

Подробности одного или нескольких вариантов осуществления изобретения указаны в описании ниже. Другие признаки или преимущества настоящего изобретения станут очевидными из следующих чертежей и подробного описания нескольких вариантов осуществления, а также из прилагаемой формулы изобретения.

#### **Краткое описание чертежей**

Фиг. 1А-1С включают графики регрессии Пуассона для подтвержденных исследователем приступов НАЕ в ходе периода лечения (сутки 0-182) для пациентов на основании количества приступов НАЕ в ходе подготовительного периода. Фиг. 1А: 1 - <2 приступа НАЕ в месяц в подготовительном периоде. Фиг. 1В: 2 - <3 приступа НАЕ в месяц в подготовительном периоде. Фиг. 1С: ≥3 приступов НАЕ в месяц в подготовительном периоде.

Фиг. 2А, 2В включают диаграммы, показывающие частоты приступов НАЕ у пациентов, которых ранее подвергали длительной профилактике с использованием ингибитора С1 (С1-INH). Фиг. 2А: средняя (стандартное отклонение) ретроспективная (3 месяца), исходная и в ходе лечения ланаделумабом (сутки 0-182) частота приступов НАЕ в месяц. Фиг. 2В: уменьшение частоты приступов НАЕ у пациентов с НАЕ в каждой из указанных групп лечения ланаделумабом.

Фиг. 3А-3С включают графики месячной частоты приступов НАЕ у субъектов-подростков. Фиг. 3А: показан график оцененной по способу наименьших квадратов (LS) средней месячной частоты приступов по сравнению с плацебо для пациентов-подростков с 95% доверительным интервалом. Фиг. 3В: график месячной частоты приступов НАЕ в ходе периода лечения ланаделумабом, по сравнению с исходной, для переведенных и не переведенных субъектов-подростков. Фиг. 3С: показан график отношения рисков для оцененной по способу наименьших квадратов средней месячной частоты приступов (по сравнению с плацебо), с 95% доверительным интервалом, для пациентов-подростков в каждой из указанных групп лечения ланаделумабом.

На фиг. 4А-4Е показаны графики процента уменьшения частоты приступов НАЕ, с 95% доверительным интервалом, от плацебо, для каждого из указанных демографических данных. Фиг. 4А: возраст; фиг. 4В: пол; фиг. 4С: масса; фиг. 4Д: тип НАЕ; фиг. 4Е: приступы в гортани в анамнезе. Для каждой из указанных групп, столбцы соответствуют, слева направо, 150 мг каждые 4 недели, 300 мг каждые 4 недели, и 300 мг каждые 2 недели, "n" под графиком относится к количеству субъектов в каждой группе.

На фиг. 5 показана лесовидная диаграмма отношения рисков для количества подтвержденных ис-

следователем приступов НАЕ, на основании указанных демографических данных.

### Подробное описание

Определения.

Для удобства, перед дальнейшим описанием настоящего изобретения приведены определения конкретных терминов, используемых в описании, примерах и прилагаемой формуле изобретения. Другие термины определены по мере того, как они встречаются в описании.

Формы единственного числа включают объекты ссылки множественного числа, если контекст явно не требует иного.

В рамках изобретения, термин "приблизительно" относится к конкретному значению +/- 5%. Например, антитело при приблизительно 300 мг включает любое количество антитела между 285 мг - 315 мг.

Термин "антитело" относится к молекуле иммуноглобулина, способной к специфическому связыванию с мишенью, такой как углевод, полинуклеотид, липид, полипептид и т.д., посредством по меньшей мере одного участка узнавания антигена, локализованного в варибельной области молекулы иммуноглобулина. Антитело может включать по меньшей мере одну тяжелую (H) цепь, которая содержит варибельный домен тяжелой цепи иммуноглобулина ( $V_H$ ), по меньшей мере одну легкую цепь, которая содержит варибельный домен легкой цепи иммуноглобулина ( $V_L$ ), или обе. Например, антитело может включать варибельную область тяжелой (H) цепи (сокращенно обозначаемую в настоящем описании как  $V_H$  или HV) и варибельную область легкой (L) цепи (сокращенно обозначаемую в настоящем описании как  $V_L$  или LV). В другом примере, антитело включает две варибельные области тяжелой (H) цепи и две варибельные области легкой (L) цепи.

В рамках изобретения, термин "антитело" включает не только интактные (т.е., полноразмерные) поликлональные или моноклональные антитела, но также их антигенсвязывающие фрагменты (например, Fab, Fab', F(ab')<sub>2</sub>, Fv), одноцепочечные фрагменты (scFv), фрагменты доменного антитела (dAb) (de Wildt et al., Euro. J. Immunol. (1996) 26(3): 629-639), любые их мутанты, слитые белки, содержащие часть антитела, гуманизированные антитела, химерные антитела, диатела, линейные антитела, одноцепочечные антитела, мультиспецифические антитела (например, биспецифические антитела) и любую другую модифицированную конфигурацию молекулы иммуноглобулина, которая содержит участок узнавания антигена необходимой специфичности, включая гликозилирование варианты антител, варианты аминокислотной последовательности антител и ковалентно модифицированные антитела. Антитело включает антитело любого класса, такого как IgD, IgE, IgG, IgA или IgM (или их подкласс), и антитело не обязательно должно принадлежать к какому-либо конкретному классу. В зависимости от аминокислотной последовательности антитела в константных доменах его тяжелых цепей, иммуноглобулины можно относить к различным классам. Существует пять главных классов иммуноглобулинов: IgA, IgD, IgE, IgG и IgM, и несколько из них можно далее подразделять на подклассы (изотипы), например, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 и IgA2. Константные домены тяжелой цепи, соответствующие различным классам иммуноглобулинов, называют альфа, дельта, эпсилон, гамма и мю, соответственно. Структуры субъединиц и трехмерные конфигурации различных классов иммуноглобулинов хорошо известны. Антитела могут происходить из любого источника, но антитела приматов (человека и нечеловекообразного примата) и приматизированные антитела являются предпочтительными.

Области  $V_H$  и/или  $V_L$  могут включать всю или часть аминокислотной последовательности природного варибельного домена. Например, в последовательности можно опускать одну, две или более N- или C-концевых аминокислот, внутренних аминокислот, она может включать одну или несколько вставок или дополнительных концевых аминокислот, или может включать другие изменения. В одном варианте осуществления, полипептид, который включает последовательность варибельного домена иммуноглобулина, может являться ассоциированным с другой последовательностью варибельного домена иммуноглобулина с формированием антигенсвязывающего участка, например, структуры, предпочтительно взаимодействующей с калликреином плазмы.

Области  $V_H$  и  $V_L$  можно дополнительно подразделять на гиперварибельные области, названные "определяющими комплементарность областями" ("CDR"), перемежающиеся областями, которые являются более консервативными, названными "каркасными областями" ("FR"). Протяженность каркасной области и CDR определены (см., Kabat, E.A., et al. (1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest, Fifth Edition, U.S. Department of Health and Human Services, NIH Publication No. 91-3242, и Chothia, C. et al. (1987) J. Mol. Biol. 196:901-917). В настоящем описании используют определения Kabat. Каждая из  $V_H$  и  $V_L$ , как правило, состоит из трех CDR и четырех FR, аранжированных от amino-конца к карбокси-концу в следующем порядке: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4.

В дополнение к областям  $V_H$  или  $V_L$ , тяжелая цепь или легкая цепь антитела может дополнительно включать всю или часть константной области тяжелой или легкой цепи. В одном варианте осуществления, антитело представляет собой тетрамер из двух тяжелых цепей иммуноглобулина и двух легких цепей иммуноглобулина, где тяжелые и легкие цепи иммуноглобулина соединены между собой, например, дисульфидными связями. В IgG, константная область тяжелой цепи включает три иммуноглобулиновых домена, CH1, CH2 и CH3. Константная область легкой цепи включает домен CL. Варибельная область

тяжелых и легких цепей содержит связывающий домен, взаимодействующий с антигеном. Константные области антител, как правило, опосредуют связывание антитела с тканями или факторами хозяина, включая различные клетки иммунной системы (например, эффекторные клетки) и первый компонент (C1q) классической системы комплемента. Легкие цепи иммуноглобулина могут принадлежать к типу каппа или лямбда. В одном варианте осуществления, антитело является гликозилированным. Антитело может являться функциональным в отношении антителозависимой цитотоксичности и/или опосредованной комплементом цитотоксичности.

Одна или несколько областей антитела могут являться человеческими или по существу человеческими. Например, одна или несколько вариабельных областей могут являться человеческими или по существу человеческими. Например, одна или несколько CDR могут являться человеческими, например, HC CDR1, HC CDR2, HC CDR3, LC CDR1, LC CDR2 и/или LC CDR3. Каждая из CDR легкой цепи (LC) и/или тяжелой цепи (HC) может являться человеческой. HC CDR3 может являться человеческой. Одна или несколько каркасных областей могут являться человеческими, например, FR1, FR2, FR3, и/или FR4 HC и/или LC. Например, область Fc может являться человеческой. В одном из вариантов осуществления, все каркасные области являются человеческими, например, полученными из соматической клетки человека, например, гематопозитической клетки, продуцирующей иммуноглобулина, или не относящейся к гематопозитической клетки. В одном варианте осуществления, человеческие последовательности представляют собой зародышевые последовательности, например, кодируемые зародышевой нуклеиновой кислотой. В одном варианте осуществления, каркасные (FR) остатки выбранного Fab можно переводить в аминокислоту типа соответствующего остатка в наиболее сходном зародышевом гене примата, особенно, зародышевом гене человека. Одна или несколько константных областей могут являться человеческими или по существу человеческими. Например, по меньшей мере 70, 75, 80, 85, 90, 92, 95, 98 или 100% вариабельного домена иммуноглобулина, константной области, константных доменов (CH1, CH2, CH3 и/или CL1), или целого антитела могут являться человеческими или по существу человеческими.

Антитело может быть кодировано геном иммуноглобулина или его фрагментом. Иллюстративные гены иммуноглобулинов человека включают гены константных областей каппа, лямбда, альфа (IgA1 и IgA2), гамма (IgG1, IgG2, IgG3, IgG4), дельта, эпсилон и мю, так же как многие гены вариабельных областей иммуноглобулина. Полноразмерные "легкие цепи" иммуноглобулина (приблизительно 25 кДа или приблизительно 214 аминокислот) кодированы геном вариабельной области на NH<sub>2</sub>-конце (приблизительно 110 аминокислот) и геном константной области каппа или лямбда на COOH-конце. Полноразмерные "тяжелые цепи" иммуноглобулина (приблизительно 50 кДа или приблизительно 446 аминокислот), сходным образом, кодированы геном вариабельной области (приблизительно 116 аминокислот) и одним из других вышеупомянутых генов константной области, например, гамма (кодирующим приблизительно 330 аминокислот). Длина HC человека значительно изменчива, поскольку HC CDR3 меняется от приблизительно 3 остатков аминокислот до более 35 остатков аминокислот.

Термин "антигенсвязывающий фрагмент" полноразмерного антитела относится к одному или нескольким фрагментам полноразмерного антитела, сохраняющим способность специфически связываться с представляющей интерес мишенью. Примеры связывающих фрагментов, входящих в термин "антигенсвязывающий фрагмент" полноразмерного антитела и сохраняющих функциональность, включают (i) фрагмент Fab, одновалентный фрагмент, состоящий из доменов V<sub>L</sub>, V<sub>H</sub>, C<sub>L</sub> и CH1; (ii) фрагмент F(ab')<sub>2</sub>, бивалентный фрагмент, включающий два фрагмента Fab, связанных дисульфидным мостиком в шарнирной области; (iii) фрагмент Fd, состоящий из доменов V<sub>H</sub> и CH1; (iv) фрагмент Fv, состоящий из доменов V<sub>L</sub> и V<sub>H</sub> одного плеча антитела, (v) фрагмент dAb (Ward et al., (1989) Nature 341:544-546), состоящий из домена V<sub>H</sub>; и (vi) выделенную определяющую комплементарность область (CDR). Кроме того, хотя два домена фрагмента Fv, V<sub>L</sub> и V<sub>H</sub>, кодированы отдельными генами, их можно соединять, с использованием рекомбинантных способов, посредством синтетического линкера, позволяющего получать их в виде единой белковой цепи, в которой области V<sub>L</sub> и V<sub>H</sub> спарены для образования одновалентных молекул, известных как одноцепочечный Fv (scFv). См., например, Патенты США No. 5260203, 4946778, и 4881175; Bird et al. (1988) Science 242:423-426; и Huston et al. (1988) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85:5879-5883. Фрагменты антител можно получать с использованием любого подходящего способа, включая общепринятые способы, известные специалисту в этой области.

Термин "моноспецифическое антитело" относится к антителу, проявляющему одну специфичность связывания и аффинность для конкретной мишени, например, эпитопа. Этот термин включает "моноклональное антитело" или "композицию моноклональных антител", которые, в рамках изобретения, относятся к препарату антител или их фрагментов одного молекулярного состава, независимо от того, каким образом антитело было получено. Антитела "подвергают модификации до зародышевых", возвращая одну или несколько аминокислот, не относящихся к зародышевой линии, в каркасных областях в соответствующие аминокислоты антитела зародышевой линии, при условии, что связывающие свойства, по существу, сохраняются.

Константа ингибирования (K<sub>i</sub>) представляет собой меру активности ингибитора; она представляет собой концентрацию ингибитора, необходимую для снижения активности фермента наполовину, и не зависит от концентраций фермента или субстрата. Кажущуюся K<sub>i</sub> (K<sub>i, каж.</sub>) получают при различных кон-

центрациях субстрата посредством измерения ингибирующего эффекта различных концентраций ингибитора (например, ингибирующего связывающего белка) на степень реакции (например, активность фермента); установление соответствия изменения константы скорости реакции псевдопервого порядка как функции концентрации ингибитора и уравнения Моррисона (уравнения 1) приводит к оценке значения кажущейся  $K_i$ .  $K_i$  получают из точки пересечения с осью  $y$ , получаемой при линейном регрессионном анализе графика  $K_{i, \text{каж}}$  против концентрации субстрата.

$$v = v_o - v_o \left( \frac{(K_{i, \text{каж}} + I + E) - \sqrt{(K_{i, \text{каж}} + I + E)^2 - 4 \cdot I \cdot E}}{2 \cdot E} \right)$$

Уравнение 1

где  $v$ =измеряемая скорость;  $v_0$ =скорость в отсутствие ингибитора;  $K_{i, \text{каж}}$ =кажущаяся константа ингибирования;  $I$ =общая концентрация ингибитора; и  $E$ =общая концентрация фермента.

В рамках изобретения, "аффинность связывания" относится к кажущейся константе связывания или  $K_A$ .  $K_A$  является обратной константе диссоциации ( $K_D$ ). Связывающее антитело может, например, иметь аффинность связывания по меньшей мере 10<sup>5</sup>, 10<sup>6</sup>, 10<sup>7</sup>, 10<sup>8</sup>, 10<sup>9</sup>, 10<sup>10</sup> и 10<sup>11</sup> M<sup>-1</sup> для конкретной молекулы-мишени, например, калликреина плазмы. На связывание с более высокой аффинностью связывающего антитела с первой мишенью, относительно второй мишени, может указывать более высокая  $K_A$  (или меньшее числовое значение  $K_D$ ) для связывания первой мишени, чем  $K_A$  (или числовое значение  $K_D$ ) для связывания второй мишени. В таких случаях, связывающее антитело имеет специфичность для первой мишени (например, белка в первой конформации или его миметика), относительно второй мишени (например, того же белка во второй конформации или его миметика; или второго белка). Различия аффинности связывания (например, в случае специфичности или других сравнений) могут являться по меньшей мере 1,5, 2, 3, 4, 5, 10, 15, 20, 30, 40, 50, 70, 80, 90, 100, 500, 1000, 10000 или 10<sup>5</sup>-кратными.

Аффинность связывания можно определять множеством способов, включая равновесный диализ, равновесное связывание, гель-фильтрацию, ELISA, поверхностный плазмонный резонанс или спектроскопию (например, с использованием флуоресцентного анализа). Иллюстративные условия для оценки аффинности связывания представляют собой буфер HBS-P (10 mM HEPES pH 7,4, 150 mM NaCl, 0,005% (об./об.) поверхностно-активного вещества P20). Эти способы можно использовать для измерения концентрации связанного и свободного связывающего белка как функции концентрации связывающего белка (или мишени). Концентрация связанного связывающего белка ([Связанный]) связана с концентрацией свободного связывающего белка ([Свободный]) и концентрацией участков связывания для связывающего белка на мишени, где ( $N$ ) представляет собой количество участков связывания на молекулу-мишень, в соответствии со следующим уравнением:

$$[\text{Связанный}] = N \cdot [\text{Свободный}] / ((1/K_A) + [\text{Свободный}]).$$

Однако не всегда является необходимым точно определять  $K_A$ , поскольку иногда достаточно осуществлять количественное измерение аффинности, например, определенная с использованием такого способа, как ELISA или анализ FACS, она является пропорциональной  $K_A$ , и таким образом, может быть использована для сравнений, таких как определение, является ли более высокая аффинность, например, в 2 раза более высокой, для осуществления качественного измерения аффинности, или для получения вывода об аффинности, например, по активности в функциональном анализе, например, анализе *in vitro* или *in vivo*.

Термины "связывающее антитело" (или "связывающий белок" используемые в настоящем описании взаимозаменяемо) относятся к антителу, которое может взаимодействовать с молекулой-мишенью. Термин "молекула-мишень" использован взаимозаменяемо с "лиганд". "Связывающее калликреин плазмы антитело" относится к антителу, которое может взаимодействовать (например, связываться) с калликреином плазмы, и включает, в частности, антитела, предпочтительно или специфически взаимодействующие с калликреином плазмы и/или ингибирующие его. Антитело ингибирует калликреин плазмы, если оно вызывает уменьшение активности калликреина плазмы, по сравнению с активностью калликреина плазмы в отсутствие антитела и в таких же условиях.

"Консервативная аминокислотная замена" представляет собой замену, при которой аминокислотный остаток заменен аминокислотным остатком, имеющим сходную боковую цепь. Семейства аминокислотных остатков, имеющих сходные боковые цепи, определены в настоящем описании. Эти семейства включают аминокислоты с основными боковыми цепями (например, лизин, аргинин, гистидин), кислыми боковыми цепями (например, аспарагиновую кислоту, глутаминовую кислоту), незаряженными полярными боковыми цепями (например, глицин, аспарагин, глутамин, серин, треонин, тирозин, цистеин), неполярными боковыми цепями (например, аланин, валин, лейцин, изолейцин, пролин, фенилаланин, метионин, триптофан), бета-разветвленными боковыми цепями (например, треонин, валин, изолейцин) и ароматическими боковыми цепями (например, тирозин, фенилаланин, триптофан, гистидин).

Один или несколько аминокислотных остатков каркаса и/или CDR связывающего белка могут включать одну или несколько мутаций (например, замен (например, консервативных замен или замен не

являющихся незаменимыми аминокислот)), вставок или делеций), относительно связывающего белка, описанного в настоящем описании. Связывающий калликреин плазмы белок может иметь мутации (например, замены (например, консервативные замены или замены не являющихся незаменимыми аминокислот), вставки, или делеций) (например, по меньшей мере одну, две, три или четыре, и/или менее чем 15, 12, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3 или 2 мутации), относительно связывающего белка, описанного в настоящем описании, например, мутации, не оказывающие значительного эффекта на функцию белка. Мутации могут присутствовать в каркасных областях, CDR и/или константных областях. В некоторых вариантах осуществления, мутации присутствуют в каркасной области. В некоторых вариантах осуществления, мутации присутствуют в CDR. В некоторых вариантах осуществления, мутации присутствуют в константной области. То, является ли допустимой конкретная замена, т.е., не оказывает ли неблагоприятное влияние на биологические свойства, такие как активность связывания, можно прогнозировать, например, посредством оценки того, является ли мутация консервативной, или способом по Bowie, et al. (1990) Science 247:1306-1310.

"По существу человеческая" вариабельная область иммуноглобулина представляет собой вариабельную область иммуноглобулина, которая включает достаточное количество положений аминокислот человеческой каркасной области, так что вариабельная область иммуноглобулина не вызывает иммуногенный ответ у нормального человека. "По существу человеческое" антитело представляет собой антитело, которое включает достаточное количество положений аминокислот человека, так что антитело не вызывает иммуногенный ответ у нормального человека.

Термин "эпитоп" относится к участку на соединении-мишени, связываемому связывающим белком (например, антителом, таким как Fab или полноразмерное антитело). В случае, когда соединение-мишень представляет собой белок, участок может полностью состоять из аминокислотных компонентов, полностью состоять из химических модификаций аминокислот белка (например, гликозильных групп) или состоять из их комбинаций. Перекрывающиеся эпитопы включают по меньшей мере один распространенный аминокислотный остаток, гликозильную группу, фосфатную группу, сульфатную группу или другой молекулярный признак.

"Гуманизированная" вариабельная область иммуноглобулина представляет собой вариабельную область иммуноглобулина, модифицированную таким образом, чтобы включать достаточное количество положений аминокислот человеческой каркасной области, так что вариабельная область иммуноглобулина не вызывает иммуногенный ответ у нормального человека. Описания "гуманизированных" иммуноглобулинов включают, например, U.S. 6407213 и U.S. 5693762.

"Выделенное" антитело относится к антителу, которое удалено по меньшей мере от 90% по меньшей мере одного компонента природного образца, из которого можно получать выделенное антитело. Антитела могут иметь "по меньшей мере" конкретную степень чистоты, если представляющая интерес молекула или популяция молекул является по меньшей мере на 5, 10, 25, 50, 75, 80, 90, 92, 95, 98 или 99% чистой по массе.

Способы, описанные в настоящем описании, включают введение множественных доз антитела нуждающемуся в этом субъекту-человеку. Термины "пациент", "субъект" или "хозяин" могут быть использованы взаимозаменяемо. Субъект может представлять собой субъекта, подвергнутого предшествующему лечению НАЕ, такому как лечение, включающее антитело, описанное в настоящем описании. В некоторых вариантах осуществления, субъект представляет собой субъекта детского возраста (например, субъекта - младенца, ребенка или подростка). В некоторых вариантах осуществления, субъект-человек представляет собой подростка в возрасте менее 18 лет. В некоторых вариантах осуществления, субъект-человек представляет собой подростка в возрасте между 12 и 18 лет. В некоторых вариантах осуществления, субъект имеет возраст между 40 лет и менее чем 65 лет.

В некоторых вариантах осуществления, субъекта-человека определяют по полу. Например, в некоторых вариантах осуществления, субъект является женщиной.

В некоторых вариантах осуществления, субъекта-человека определяют по массе. В некоторых вариантах осуществления, субъект-человек имеет массу менее 50 кг. В некоторых вариантах осуществления, субъект-человек имеет массу между 50 кг и 75 кг. В некоторых вариантах осуществления, субъект-человек имеет массу между 75 кг и 100 кг. В некоторых вариантах осуществления, субъект-человек имеет массу 100 кг или более.

В некоторых вариантах осуществления, субъекта-человека определяют по предшествующим приступам в гортани в анамнезе или их отсутствию. В некоторых вариантах осуществления, субъект испытал по меньшей мере один (например, 1, 2, 3, 4, 5 или более) приступ в гортани (т.е., приступ НАЕ гортани), предшествующий введению антител, описанных в настоящем описании. В некоторых вариантах осуществления, субъект не испытывал приступа в гортани, предшествующего введению антител, описанных в настоящем описании.

Термины "прекалликреин" и "прекалликреин плазмы" использованы взаимозаменяемо в настоящем описании и относятся к форме зимогена активного калликреина плазмы, также известного как прекалликреин.

В рамках изобретения термин "по существу идентичный" (или "по существу гомологичный") ис-

пользуют в настоящем описании для обозначения первой аминокислотной последовательности или последовательности нуклеиновой кислоты, содержащей достаточное количество идентичных или эквивалентных (например, с заменами аминокислот со сходной боковой цепью, например, консервативными заменами аминокислот) аминокислотных остатков или нуклеотидов со второй аминокислотной последовательностью или последовательностью нуклеиновой кислоты, таким образом, что первая и вторая аминокислотные последовательности или последовательности нуклеиновой кислоты имеют (или кодируют белки, имеющие) сходную активность, например, активность связывания, предпочтительность связывания или биологическую активность. В случае антител, второе антитело имеет такую же специфичность и имеет по меньшей мере 50%, по меньшей мере 25%, или по меньшей мере 10% аффинности по отношению к тому же антигену.

Статистическую значимость можно определять любым способом, известным в данной области. Иллюстративные статистические тесты включают: t-критерий Стьюдента, непараметрический U-критерий Манна-Уитни, и непараметрический статистический критерий Вилкоксона. Некоторые статистические значимые взаимосвязи имеют значение P менее 0,05 или 0,02. Конкретные связывающие белки могут иметь различия, например, в специфичности или связывании, являющиеся статистически значимыми (например, значение  $P < 0,05$  или 0,02). Термины "индуцировать", "ингибировать", "стимулировать", "повышать", "увеличивать", "уменьшать" или т.п., например, обозначающие различные качественные или количественные различия между двумя состояниями, могут относиться к различиям, например, статистически значимым различиям между двумя состояниями.

"Терапевтически эффективная доза", предпочтительно, модулирует поддающийся измерению параметр, например, активность калликреина плазмы, в статистически значимой степени или по меньшей мере приблизительно на 20%, более предпочтительно, по меньшей мере приблизительно на 40%, даже более предпочтительно, по меньшей мере приблизительно на 60%, и еще более предпочтительно, по меньшей мере приблизительно на 80%, относительно не подвергнутых лечению субъектов. Способность соединения модулировать поддающийся измерению параметр, например, ассоциированный с заболеванием параметр, можно оценивать в системе модели на животных, прогностической в отношении эффективности при нарушениях и состояниях человека. Альтернативно, это свойство композиции можно оценивать посредством исследования способности соединения модулировать параметр *in vitro*.

Термин "лечение", в рамках изобретения, относится к нанесению или введению композиции, включающей одно или несколько действующих веществ, субъекту, имеющему НАЕ, симптом НАЕ, как подопревают, имеющему НАЕ или предрасположенность к развитию, или риск наличия НАЕ, с целью излечения, заживления, смягчения, облегчения, изменения, устранения, ослабления, улучшения или подведения воздействию заболевания, симптомов заболевания или предрасположенности к заболеванию. "Профилактическое лечение", также известное как "превентивное лечение", относится к лечению, имеющему целью защиту индивидуума от заболевания или уменьшение риска заболевания, которому он или она подвержен, или может быть подвержен. В некоторых вариантах осуществления, способы лечения, описанные в настоящем описании, имеют целью предотвращение возникновения и/или рецидива НАЕ.

Термин "предотвращение" заболевания у субъекта относится к подверганию субъекта фармацевтическому лечению, например, введению лекарственного средства, таким образом, что по меньшей мере один симптом заболевания предотвращают, то есть, введение предшествует клиническому проявлению нежелательного состояния (например, заболевания или другого нежелательного состояния животного-хозяина) то есть, оно защищает хозяина от развития нежелательного состояния. "Предотвращение" заболевания может быть также обозначено как "профилактика" или "профилактическое лечение".

"Профилактически эффективное количество" относится к количеству, эффективному, в необходимых дозах и в течение необходимых периодов времени, для достижения желательного профилактического результата. Как правило, поскольку профилактическую дозу используют у субъектов до развития или на ранней стадии заболевания, профилактически эффективное количество меньше, чем терапевтически эффективное количество.

Антитела, связывающие калликреин плазмы (pKal).

Связывающие калликреин плазмы антитела (антитела против pKal) для использования в способах, описанных в настоящем описании, могут являться полноразмерными (например, IgG (включая IgG1, IgG2, IgG3, IgG4), IgM, IgA (включая IgA1 IgA2), IgD и IgE) или могут включать только антигенсвязывающий фрагмент (например, фрагмент Fab, F(ab')<sub>2</sub> или scFv. Связывающее антитело может включать две тяжелые цепи иммуноглобулина и две легкие цепи иммуноглобулина, или может представлять собой одноцепочечное антитело. Связывающие калликреин плазмы антитела могут представлять собой рекомбинантные белки, такие как гуманизированные, имеющие привитые CDR, химерные, деиммунизированные или полученные *in vitro* антитела, и могут, необязательно, включать константные области, происходящие из человеческих зародышевых последовательностей иммуноглобулина. В одном варианте осуществления, связывающее калликреин плазмы антитело представляет собой моноклональное антитело.

В одном аспекте, настоящее изобретение относится к антителу (например, выделенному антителу), связывающему калликреин плазмы (например, калликреин плазмы человека и/или калликреин мыши) и включает по меньшей мере одну переменную область иммуноглобулина. Например, антитело включает



последовательность переменного домена тяжелой цепи (НС) иммуноглобулина и/или последовательность переменного домена легкой цепи (LC) иммуноглобулина. В одном варианте осуществления, антитело связывает и ингибирует калликреин плазмы, например, калликреин плазмы человека и/или калликреин мышцы.

В некоторых вариантах осуществления, антитела, описанные в настоящем описании, имеют такие же последовательности CDR, как DX-2930, например, последовательности CDR тяжелой цепи, указанные как SEQ ID NO: 5-7, и последовательности CDR легкой цепи, указанные как SEQ ID NO: 8-10. В некоторых вариантах осуществления, антитело содержит такие же последовательности CDR, как DX-2930, и последовательность переменного домена LC иммуноглобулина, по меньшей мере на 85, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99 или 100% идентичную переменному домену LC, описанному в настоящем описании (например, полностью или в каркасных областях). В некоторых вариантах осуществления, антитело содержит такие же последовательности CDR, как DX-2930, и последовательность переменного домена НС иммуноглобулина, по меньшей мере на 85, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99 или 100% идентичную переменному домену НС, описанному в настоящем описании (например, полностью или в каркасных областях). В некоторых вариантах осуществления, антитело содержит такие же последовательности CDR, как DX-2930, и последовательность LC, по меньшей мере на 85, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99 или 100% идентичную последовательности LC, описанной в настоящем описании (например, полностью или в каркасных областях). В некоторых вариантах осуществления, антитело содержит такие же последовательности CDR, как DX-2930, и последовательность НС, по меньшей мере на 85, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, или 100% идентичную последовательности НС, описанной в настоящем описании (например, полностью или в каркасных областях).

Связывающий калликреин плазмы белок может представлять собой выделенное антитело (например, по меньшей мере на 70, 80, 90, 95 или 99% свободное от других белков). В некоторых вариантах осуществления, связывающее калликреин плазмы антитело или его композиция являются выделенными по отношению к фрагментам расщепления антитела (например, DX-2930), которые являются неактивными или частично активными (например, связывают калликреин плазмы с  $K_i$ , каж. 5000 нМ или более), по сравнению со связывающим калликреин плазмы антителом. Например, связывающее калликреин плазмы антитело является по меньшей мере на 70% свободным от таких фрагментов расщепления антитела; в других вариантах осуществления, связывающее антитело является по меньшей мере на 80%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 99% или даже на 100% свободным от фрагментов расщепления антитела, которые являются неактивными или частично активными.

Связывающее калликреин плазмы антитело может, кроме того, ингибировать калликреин плазмы, например, калликреин плазмы человека.

В некоторых вариантах осуществления, связывающее калликреин плазмы антитело не связывает прекалликреин (например, прекалликреин человека и/или прекалликреин мышцы), но связывает активную форму калликреина плазмы (например, калликреина плазмы человека и/или калликреина мышцы).

В конкретных вариантах осуществления, антитело связывается с активным центром или вблизи активного центра каталитического домена калликреина плазмы или его фрагмента, или связывается с эпипопом, перекрывающимся с активным центром калликреина плазмы.

Антитело может связываться с калликреином плазмы, например, калликреином плазмы человека, с аффинностью связывания по меньшей мере  $10^5$ ,  $10^6$ ,  $10^7$ ,  $10^8$ ,  $10^9$ ,  $10^{10}$  и  $10^{11}$   $M^{-1}$ . В одном варианте осуществления, антитело связывает калликреин плазмы человека с  $K_{off}$  медленнее, чем  $1 \times 10^{-3}$ ,  $5 \times 10^{-4}$   $s^{-1}$  или  $1 \times 10^{-4}$   $s^{-1}$ . В одном варианте осуществления, антитело связывает калликреин плазмы человека с  $K_{on}$  быстрее, чем  $1 \times 10^2$ ,  $1 \times 10^3$  или  $5 \times 10^3$   $M^{-1} s^{-1}$ . В одном варианте осуществления, антитело связывает калликреин плазмы, но не связывает тканевой калликреин и/или прекалликреин плазмы (например, антитело связывает тканевой калликреин и/или прекалликреин плазмы менее эффективно (например, в 5, 10, 50, 100 или 1000 раз меньше, или вообще не связывает, например, по сравнению с отрицательным контролем) чем оно связывает калликреин плазмы).

В одном варианте осуществления, антитело ингибирует активность калликреина плазмы человека, например, с  $K_i$  менее чем  $10^{-5}$ ,  $10^{-6}$ ,  $10^{-7}$ ,  $10^{-8}$ ,  $10^{-9}$  и  $10^{-10}$  М. Антитело может иметь, например,  $IC_{50}$  менее чем 100 нМ, 10 нМ, 1, 0,5 или 0,2 нМ. Например, антитело может модулировать активность калликреина плазмы, так же как продукцию фактора XIIa (например, из фактора XII) и/или брадикинина (например, из высокомолекулярного кининогена (НМWK)). Антитело может ингибировать активность калликреина плазмы, и/или продукцию фактора XIIa (например, из фактора XII) и/или брадикинина (например, из высокомолекулярного кининогена (НМWK)). Аффинность антитела для калликреина плазмы человека может характеризоваться  $K_D$  менее чем 100 нМ, менее чем 10 нМ, менее чем 5 нМ, менее чем 1 нМ, менее чем 0,5 нМ. В одном варианте осуществления, антитело ингибирует калликреин плазмы, но не ингибирует тканевой калликреин (например, антитело ингибирует тканевой калликреин менее эффективно (например, в 5, 10, 50, 100 или 1000 раз меньше, или совсем не ингибирует, например, по сравнению с отрицательным контролем), чем оно ингибирует калликреин плазмы).

В некоторых вариантах осуществления, антитело имеет кажущуюся константу ингибирования

( $K_{i,каж}$ ) менее чем 1000, 500, 100, 5, 1, 0,5 или 0,2 нМ.

Связывающие калликреин плазмы антитела могут иметь последовательности варибельного домена HC и LC, включенные в единый полипептид (например, scFv) или различные полипептиды (например, IgG или Fab).

В одном варианте осуществления, последовательности варибельного домена HC и LC являются компонентами одной полипептидной цепи. В другом, последовательности варибельного домена HC и LC являются компонентами различных полипептидных цепей. Например, антитело представляет собой IgG, например, IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4. Антитело может представлять собой растворимый Fab. В других вариантах осуществления, антитело включает Fab2', scFv, миниантитело, слитый белок scFv::Fc, слитый белок Fab::HSA, слитый белок HSA::Fab, слитый белок Fab::HSA::Fab или другую молекулу, содержащую участок связывания антигена одного из связывающих белков в настоящем описании. Области VH и VL из этих Fab можно представлять в форме IgG, Fab, Fab2, Fab2', scFv, пегелированного Fab, пегелированного scFv, пегелированного Fab2, VH::CH1::HSA+LC, HSA::VH::CH1+LC, LC::HSA+VH::CH1, HSA::LC+VH::CH1 или другой подходящей конструкции.

В одном варианте осуществления, антитело представляет собой человеческое или гуманизированное антитело, или является неиммуногенным для человека. Например, антитело включает одну или несколько каркасных областей антитела человека, например, полностью человеческие каркасные области, или каркасные области, по меньшей мере на 85, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99% идентичные человеческим каркасным областям. В одном варианте осуществления, антитело включает домен Fc человека, или домен Fc, по меньшей мере на 95, 96, 97, 98 или 99% идентичный домену Fc человека.

В одном варианте осуществления, антитело представляет собой антитело примата или приматизированное антитело, или является неиммуногенным для человека. Например, антитело включает одну или несколько каркасных областей антитела примата, например, все каркасные области примата, или каркасные области, по меньшей мере на 85, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99% идентичные каркасным областям примата. В одном варианте осуществления, антитело включает домен Fc примата, или домен Fc, по меньшей мере на 95, 96, 97, 98 или 99% идентичный домену Fc примата. "Примат" включает человека (*Homo sapiens*), шимпанзе (*Pan troglodytes* и *Pan paniscus* (бонобо)), горилл (*Gorilla gorilla*), гиббонов, обезьян, лемурув, мадагаскарскую руконожку (*Daubentonia madagascariensis*) и долгопятов.

В некоторых вариантах осуществления, аффинность антитела примата для калликреина плазмы человека характеризуется  $K_D$  менее чем 1000, 500, 100, 10, 5, 1, 0,5 нМ, например, менее чем 10 нМ, менее чем 1 нМ, или менее чем 0,5 нМ.

В конкретных вариантах осуществления, антитело не включает последовательностей из мышей или кроликов (например, не является антителом мыши или кролика).

В некоторых вариантах осуществления, антитело, используемое в способах, описанных в настоящем описании, может представлять собой DX-2930, как описано в настоящем описании, или его функциональный вариант.

В одном примере, функциональный вариант DX-2930 содержит такие же определяющие комплементарности области (CDR), как DX-2930. В другом примере, функциональные варианты DX-2930 могут содержать одну или несколько мутаций (например, консервативных замен) в FR  $V_H$  или  $V_L$ , по сравнению с мутациями в  $V_H$  и  $V_L$  DX-2930. Предпочтительно, такие мутации не встречаются в остатках, которые, как прогнозируют, взаимодействуют с одной или несколькими CDR, которые можно определять общепринятым способом. В других вариантах осуществления, функциональные варианты, описанные в настоящем описании, содержат одну или несколько мутаций (например, 1, 2 или 3) в одной или нескольких областях CDR DX-2930. Предпочтительно, такие функциональные варианты сохраняют те же области/остатки, ответственные за связывание антигена, что и в исходном антителе. В других вариантах осуществления, функциональный вариант DX-2930 может содержать цепь  $V_H$ , содержащую аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 85% (например, на 90, 92, 94, 95, 96, 97, 98 или 99%) идентичную последовательности  $V_H$  из DX-2930, и/или цепь  $V_L$ , имеющую аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 85% (например, 90, 92, 94, 95, 96, 97, 98 или 99%) идентичную последовательности  $V_L$  из DX-2930. Эти варианты способны связывать активную форму калликреина плазмы и предпочтительно, не связывают прекаликреин.

"Процент идентичности" двух аминокислотных последовательностей определяют с использованием алгоритма Karlin and Altschul Proc. Natl. Acad. Sci. USA 87:2264-68, 1990, модифицированного, как в Karlin and Altschul Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:5873-77, 1993. Такой алгоритм включен в программы NBLAST и XBLAST (версии 2.0) по Altschul, et al. J. Mol. Biol. 215:403-10, 1990. Поиски белков в BLAST можно осуществлять с использованием программы XBLAST, баллы=50, длина слова=3, для получения аминокислотных последовательностей, гомологичных представляющим интерес белковым молекулам. Когда между двумя последовательностями есть пропуски, можно использовать Gapped BLAST, как описано в Altschul et al., Nucleic Acids Res. 25(17):3389-3402, 1997. При использовании программ BLAST и Gapped BLAST, можно использовать параметры по умолчанию соответствующих программ (например, XBLAST и NBLAST).

В некоторых вариантах осуществления, антитело, используемое в способах и композициях, описан-

ных в настоящем описании, может представлять собой антитело DX-2930. Полноразмерные последовательности и последовательности переменных областей тяжелой и легкой цепи DX-2930 представлены ниже, с сигнальными последовательностями, выделенными курсивом. CDR выделены жирным шрифтом и подчеркнуты.

Аминокислотная последовательность тяжелой цепи DX-2930 (451 аминокислота, 49439,02 Да.

MGWSCILFLVATATGAHSEVQLLESGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWV  
RQAPGKGLEWVSGIYSSGGITVYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYY  
CAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD  
YFPEPVTVSWNSGALTSKVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSN  
TKVDKRVPEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSH  
EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN  
KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN  
GQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVVFSCVMHEALHNHYTQKSLS  
LSPG (SEQ ID NO: 1)

Аминокислотная последовательность легкой цепи DX-2930 (213 аминокислот, 23419,08 Да).

MGWSCILFLVATATGAHSDIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCRASQSISSWLAWYQQ  
KPGKAPKLLIYKASTLESGVPSRFSGSGSGTEFTLTISLQPDFFATYYCQYNTYWTFG  
QGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGN  
SQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ  
ID NO: 2)

Аминокислотная последовательность переменного домена тяжелой цепи DX-2930.

EVQLLESGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYS  
SGGITVYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDI  
WGQGTMTVSS (SEQ ID NO: 3)

Аминокислотная последовательность переменного домена легкой цепи DX-2930.

DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCRASQSISSWLAWYQQKPGKAPKLLIYKASTLE  
SGVPSRFSGSGSGTEFTLTISLQPDFFATYYCQYNTYWTFGQGTKVEIK (SEQ ID NO:  
4)

Таблица 1

CDR для DX-2930.

CDR	Аминокислотная последовательность
CDR1 тяжелой цепи	HYIMM (SEQ ID NO: 5)
CDR2 тяжелой цепи	GIYSSGGITVYADSVKGR (SEQ ID NO: 6)
CDR3 тяжелой цепи	RRIGVPRRDEFDI (SEQ ID NO: 7)
CDR1 легкой цепи	RASQSISSWLA (SEQ ID NO: 8)
CDR2 легкой цепи	KASTLES (SEQ ID NO: 9)
CDR3 легкой цепи	QYNTYWT (SEQ ID NO: 10)

Получение антитела.

Антитело, как описано в настоящем описании (например, DX-2930), можно получать любым способом, известным в данной области. См., например, Harlow and Lane, (1988) *Antibodies: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory, New York, и Greenfield, (2013) *Antibodies: A Laboratory Manual*, Second edition, Cold Spring Harbor Laboratory Press.

Последовательность, кодирующую представляющее интерес антитело, например, DX-2930, можно поддерживать в векторе в клетке-хозяине, и затем клетку-хозяина можно размножить и замораживать для последующего использования. Альтернативно, полинуклеотидную последовательность можно использовать для генетической манипуляции для "гуманизации" антитела, или для улучшения аффинности (аффинного созревания) или других характеристик антитела. Например, константную область можно модифицировать таким образом, чтобы она больше напоминала человеческие константные области, чтобы избежать иммунного ответа, если антитело используют в клинических исследованиях и лечении для человека. Может являться желательной генетической манипуляцией с последовательностью антитела для получения большей аффинности для антигена-мишени и большей эффективности в ингибировании активности PKal. Специалисту в данной области очевидно, что можно осуществлять одно или несколько изменений полинуклеотидов в антителе и все равно сохранять его специфичность связывания с антигеном-мишенью.

В других вариантах осуществления, полностью человеческие антитела можно получать с использованием коммерчески доступных мышей, модифицированных для экспрессии специфических иммуноглобулиновых белков человека. Трансгенных животных, разработанных для получения более желательного (например, полностью человеческих антител) или более устойчивого иммунного ответа, также можно

использовать для получения гуманизированных или человеческих антител. Примерами такой технологии являются Xenomouse<sup>RTM</sup> от Amgen, Inc. (Fremont, Calif.), и HuMAB-Mouse<sup>RTM</sup> и TC Mouse<sup>TM</sup> от Medarex, Inc. (Princeton, N.J.). Альтернативно, антитела можно получать рекомбинантным способом посредством фагового дисплея или технологии с использованием дрожжей. См., например, Патенты США No. 5565332; 5580717; 5733743; и 6265150; и Winter et al., (1994) *Annu. Rev. Immunol.* 12:433-455. Альтернативно, технологию фагового дисплея (McCafferty et al., (1990) *Nature* 348:552-553) можно использовать для получения человеческих антител и фрагментов антител *in vitro*, из репертуара генов переменных (V) доменов иммуноглобулина от неиммунизированных доноров.

Антигенсвязывающие фрагменты интактного антитела (полноразмерного антитела) можно получать общепринятыми способами. Например, фрагменты F(ab')<sub>2</sub> можно получать посредством расщепления пепсином молекулы антитела, и фрагменты Fab можно получать посредством восстановления дисульфидных мостиков фрагментов F(ab')<sub>2</sub>.

Генноинженерные антитела, такие как гуманизированные антитела, химерные антитела, одноцепочечные антитела и биспецифические антитела, можно получать посредством, например, общепринятой рекомбинантной технологии. В одном примере, ДНК, кодирующую моноклональные антитела, специфические для антигена-мишени, можно легко выделять или синтезировать. ДНК можно помещать в один или несколько экспрессирующих векторов, которыми затем трансфицируют клетки-хозяева, такие как клетки *E. coli*, клетки обезьяны COS, клетки яичника китайского хомяка (CHO) или клетки миеломы, которые в ином случае не продуцируют иммуноглобулиновый белок, для осуществления синтеза моноклональных антител в рекомбинантных клетках-хозяевах. См., например, Публикацию PCT No. WO 87/04462. Затем ДНК можно модифицировать, например, посредством замены кодирующей последовательности человеческими константными доменами тяжелой и легкой цепи вместо гомологичных мышинных последовательностей, Morrison et al., (1984) *Proc. Nat. Acad. Sci.* 81:6851, или посредством ковалентного соединения с кодирующей последовательностью иммуноглобулина всей или части кодирующей последовательности неиммуноглобулинового полипептида. Таким образом, можно получать генноинженерные антитела, такие как "химерные" или "гибридные" антитела; имеющие специфичность связывания антигена-мишени.

Способы, разработанные для получения "химерных антител", хорошо известны в данной области. См., например, Morrison et al. (1984) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 81, 6851; Neuberger et al. (1984) *Nature* 312, 604; и Takeda et al. (1984) *Nature* 314:452.

Способы конструирования гуманизированных антител также хорошо известны в данной области. См., например, Queen et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 86:10029-10033 (1989). В одном примере, переменные области VH и VL исходного не относящегося к человеку антитела подвергают анализу трехмерного молекулярного моделирования, следуя способам, известным в данной области. Затем, каркасные аминокислотные остатки, как прогнозировано, важные для формирования правильных структур CDR, идентифицируют с использованием такого же анализа молекулярного моделирования. Параллельно, цепи V<sub>H</sub> и V<sub>L</sub>, имеющие аминокислотные последовательности, гомологичные последовательностям исходного, не относящегося к человеку антитела, идентифицируют из любой базы данных генов антител с использованием исходных последовательностей V<sub>H</sub> и V<sub>L</sub> последовательности в качестве поисковых запросов. Затем выбирают акцепторные гены V<sub>H</sub> и V<sub>L</sub> человека.

Области CDR в выбранных акцепторных генах человека можно заменять областями CDR из исходного, не относящегося к человеку антитела или его функциональных вариантов. При необходимости, остатки в каркасных областях исходной цепи, которые, как прогнозируют, важны для взаимодействия с областями CDR (см. описание выше), можно использовать для замены соответствующих остатков в акцепторных генах человека.

Одноцепочечное антитело можно получать с помощью рекомбинантной технологии, посредством связывания нуклеотидной последовательности, кодирующей переменную область тяжелой цепи, и нуклеотидной последовательности, кодирующей переменную область легкой цепи. Предпочтительно, гибкий линкер вставляют между двумя переменными областями. Альтернативно, способы, описанные для получения одноцепочечных антител (Патенты США No. 4946778 и 4704692), можно адаптировать для получения фаговой или дрожжевой библиотеки scFv, и клоны scFv, специфические для PKa1, можно идентифицировать из библиотеки общепринятыми способами. Положительные клоны можно подвергать дальнейшему скринингу для идентификации клонов, ингибирующих активность PKa1.

Некоторые антитела, например, Fab, можно получать в бактериальных клетках, например, клетках *E. coli* (см., например, Nadkarni, A. et al., 2007 *Protein Expr Purif* 52(1):219-29). Например, если Fab кодируется последовательностями в векторе фагового дисплея, включающем супрессируемый стоп-кодон между экспонируемой молекулой и белком бактериофага (или его фрагментом), нуклеиновую кислоту вектора можно переносить в бактериальную клетку, которая не может супрессировать стоп-кодон. В этом случае, Fab не является слитым с белком гена III, и секретируется в периплазму и/или среды.

Антитела также можно получать в эукариотических клетках. В одном варианте осуществления, антитела (например, scFv) экспрессируют в клетке дрожжей, таких как *Pichia* (см., например, Powers et al., 2001, *J. Immunol. Methods*. 251:123-35; Schoonooghe S. et al., 2009 *BMC Biotechnol.* 9:70; Abdel-Salam, HA.

et al., 2001 *Appl Microbiol Biotechnol* 56(1-2):157-64; Takahashi K. et al., 2000 *Biosci Biotechnol Biochem* 64(10):2138-44; Edqvist, J. et al., 1991 *J Biotechnol* 20(3):291-300), *Hanseula* или *Saccharomyces*. Специалист в данной области может оптимизировать продукцию антитела в дрожжах посредством оптимизации, например, кислородных условий (см., например, Baumann K., et al. 2010 *BMC Syst. Biol.* 4:141), осмолярности (см., например, Dragosits, M. et al., 2010 *BMC Genomics* 11:207), температуры (см., например, Dragosits, M. et al., 2009 *J Proteome Res.* 8(3): 1380-92), условий ферментации (см., например, Ning, D. et al. 2005 *J. Biochem. and Mol. Biol.* 38(3): 294-299), штамма дрожжей (см., например, Kozyr, AV et al. 2004 *Mol Biol (Mosk)* 38(6): 1067-75; Horwitz, AH. et al., 1988 *Proc Natl Acad Sci USA* 85(22):8678-82; Bowdish, K. et al. 1991 *J Biol Chem* 266(18): 11901-8), сверхэкспрессии белков для усиления продукции антител (см., например, Gasser, B. et al., 2006 *Biotechnol. Bioeng.* 94(2):353-61), уровня кислотности культуры (см., например, Kobayashi H., et al., 1997 *FEMS Microbiol Lett* 152(2):235-42), концентраций субстратов и/или ионов (см., например, Ko JH. et al., 2006 *Appl Biochem Biotechnol* 60(1):41-8). Кроме того, дрожжевые системы можно использовать для продукции антител с увеличенным временем полужизни (см., например, Smith, BJ. et al. 2001 *Bioconjug Chem* 12(5):750-756).

В одном предпочтительном варианте осуществления, антитела продуцируют в клетках млекопитающих. Предпочтительные клетки-хозяева млекопитающих для экспрессии клонов антител или их антигенсвязывающих фрагментов включают клетки китайского хомяка (клетки CHO) (включая клетки dhfr-CHO, описанные в Urlaub and Chasin, 1980, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 77:4216-4220, используемые с селективным маркером DHFR, например, как описано в Kaufman and Sharp, 1982, *Mol. Biol.* 159:601-621), линии лимфоцитарных клеток, например, клетки миеломы NS0 и клетки SP2, клетки COS, клетки HEK293T (*J. Immunol. Methods* (2004) 289(1-2):65-80), и клетку из трансгенного животного, например, трансгенного млекопитающего. Например, клетка представляет собой эпителиальную клетку млекопитающего.

В некоторых вариантах осуществления, связывающие калликреин плазмы антитела продуцируют в растительной или бесклеточной системе (см., например, Galeffi, P., et al., 2006 *J Transl Med* 4:39).

В дополнение к последовательности нуклеиновой кислоты, кодирующей иммуноглобулиновый домен с внесением разнообразия, рекомбинантные экспрессирующие векторы могут нести дополнительные последовательности, такие как последовательности, регулирующие репликацию вектора в клетках-хозяевах (например, точки начала репликации) и гены селективных маркеров. Ген селективного маркера облегчает отбор клеток-хозяев, в которые введен вектор (см., например, Патенты США No. 4399216, 4634665 и 5179017). Например, как правило, ген селективного маркера придает устойчивость к лекарственным средствам, таким как G418, гигромицин или метотрексат, клетке-хозяину, в которую введен вектор. Предпочтительные гены селективных маркеров включают ген дигидрофолатредуктазы (DHFR) (для использования в dhfr<sup>-</sup> клетках-хозяевах с отбором/амплификацией на метотрексате) и ген нео (для отбора на G418).

В иллюстративной системе для рекомбинантной экспрессии антитела или его антигенсвязывающей части, рекомбинантный экспрессирующий вектор, кодирующий как тяжелую цепь антитела, так и легкую цепь антитела, вводят в клетки dhfr<sup>-</sup> CHO с использованием опосредованной фосфатом кальция трансфекции. В рекомбинантном экспрессирующем векторе, каждый из генов тяжелой и легкой цепи антитела функционально связан с энхансерными/промоторными регуляторными элементами (например, происходящими из SV40, CMV, аденовируса и т.п., такими как регуляторный элемент энхансер CMV/промотор AdMLP или регуляторный элемент энхансер SV40/промотор AdMLP) для регуляции высоких уровней транскрипции генов. Рекомбинантный экспрессирующий вектор также несет ген DHFR, позволяющий отбор клеток CHO, трансфицированных вектором с использованием отбора/амплификации на метотрексате. Отобранные трансформанты клеток-хозяев культивируют, чтобы позволить экспрессию тяжелых и легких цепей антитела, и интактное антитело выделяют из культуральной среды. Стандартные способы молекулярной биологии используют для получения рекомбинантного экспрессирующего вектора, трансфекции клеток-хозяев, отбора трансформантов, культивирования клеток-хозяев и выделения антитела из культуральной среды. Например, некоторые антитела можно выделять посредством аффинной хроматографии с матриксом, связанным с белком А или белком G.

В случае антител, включающих домен Fc, система для продукции антител может продуцировать антитела, в которых область Fc гликозилирована. Например, домен Fc молекул IgG гликозилирован по аспарагину 297 в домене CH2. Этот аспарагин является участком модификации олигосахаридами двухантенного типа. Показано, что это гликозилирование необходимо для эффекторных функций, опосредованных рецепторами Fcγ и компонентом комплемента C1q (Burton and Woof, 1992, *Adv. Immunol.* 51:1-84; Jefferis et al., 1998, *Immunol. Rev.* 163:59-76). В одном варианте осуществления, домен Fc продуцируют в системе экспрессии млекопитающего, соответствующим образом гликозилирующей остаток, соответствующий аспарагину 297. Домен Fc может также включать другие эукариотические посттрансляционные модификации.

Антитела также можно получать посредством трансгенного животного. Например, в Патенте США No. 5849992 описан способ экспрессии антитела в молочной железе трансгенного млекопитающего. Конструируют трансген, включающий специфический для молока промотор и нуклеиновые кислоты, коди-

рующие представляющее интерес антитело, и сигнальную последовательность для секреции. Молоко, продуцируемое самками таких трансгенных млекопитающих, включает секретируемое в нем представляющее интерес антитело. Антитело можно очищать из молока или, для некоторых применений, использовать непосредственно.

#### Фармацевтические композиции.

Антитело, как описано в настоящем описании (например, DX-2930), может присутствовать в композиции, например, фармацевтически приемлемой композиции или фармацевтической композиции. Антитело, как описано в настоящем описании (например, DX-2930), можно составлять вместе с фармацевтически приемлемым носителем. В некоторых вариантах осуществления, 150 мг или 300 мг антитела DX-2930 присутствуют в композиции, необязательно с фармацевтически приемлемым носителем, например, в фармацевтически приемлемой композиции или фармацевтической композиции.

Фармацевтически приемлемый носитель включает все без исключения растворители, дисперсионные среды, покрытия, антибактериальные и противогрибковые средства, изотонические и замедляющие абсорбцию средства, и т.п., являющиеся физиологически совместимыми. Предпочтительно, носитель является пригодным для подкожного, внутривенного, внутримышечного, парентерального, спинального или эпидермального введения (например, посредством инъекции или инфузии), хотя также предусмотрены носители, подходящие для ингаляции и интраназального введения.

Фармацевтически приемлемый носитель в фармацевтической композиции, описанной в настоящем описании, может включать одно или несколько из забуферивающего средства, аминокислоты и модификатора тоничности. Любое пригодное забуферивающее средство или комбинацию забуферивающих средств можно использовать в фармацевтической композиции, описанной в настоящем описании, чтобы поддерживать или чтобы способствовать поддержанию подходящего pH композиции. Неограничивающие примеры забуферивающих средств включают фосфат натрия, фосфат калия, лимонную кислоту, сукцинат натрия, гистидин, Трис и ацетат натрия. В некоторых вариантах осуществления, забуферивающие средства могут присутствовать в концентрации приблизительно 5-100 мМ, 5-50 мМ, 10-50 мМ, 15-50 мМ или приблизительно 15-40 мМ. Например, одно или несколько забуферивающих средств могут присутствовать в концентрации приблизительно 15 мМ, 16 мМ, 17 мМ, 18 мМ, 19 мМ, 20 мМ, 21 мМ, 22 мМ, 23 мМ, 24 мМ, 25 мМ, 26 мМ, 27 мМ, 28 мМ, 29 мМ, 30 мМ, 31 мМ, 32 мМ, 33 мМ, 35 мМ, 36 мМ, 37 мМ, 38 мМ, 39 мМ или приблизительно 40 мМ. В некоторых примерах, фармацевтически приемлемый носитель содержит фосфат натрия и лимонную кислоту, которые могут присутствовать в концентрации приблизительно 30 мМ и приблизительно 19 мМ, соответственно.

В некоторых вариантах осуществления, фармацевтически приемлемый носитель включает одну или несколько аминокислот, которые могут уменьшать агрегацию антитела и/или увеличивать стабильность антитела во время хранения, предшествующего введению. Иллюстративные аминокислоты для использования в получении фармацевтических композиций, описанных в настоящем описании, включают, но без ограничения, аланин, аргинин, аспарагин, аспарагиновую кислоту, глицин, гистидин, лизин, пролин или серин. В некоторых примерах, концентрация аминокислоты в фармацевтической композиции может составлять приблизительно 5-100, 10-90, 20-80, 30-70, 40-60 мМ или приблизительно 45-55 мМ. В некоторых примерах, концентрация аминокислоты (например, гистидина) может составлять приблизительно 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59 мМ или приблизительно 60 мМ. В одном примере, фармацевтическая композиция содержит гистидин в концентрации приблизительно 50 мМ.

Любой пригодный модификатор тоничности можно использовать для получения фармацевтических композиций, описанных в настоящем описании. В некоторых вариантах осуществления, модификатор тоничности представляет собой соль или аминокислоту. Примеры пригодных солей включают, без ограничения, хлорид натрия, сукцинат натрия, сульфат натрия, хлорид калия, хлорид магния, сульфат магния, и хлорид кальция. В некоторых вариантах осуществления, модификатор тоничности в фармацевтической композиции может присутствовать в концентрации приблизительно 10-150, 50-150, 50-100, 75-100 мМ или приблизительно 85-95 мМ. В некоторых вариантах осуществления, модификатор тоничности может присутствовать в концентрации приблизительно 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99 или приблизительно 100 мМ. В одном примере, модификатор тоничности может представлять собой хлорид натрия, который может присутствовать в концентрации приблизительно 90 мМ.

Фармацевтически приемлемый носитель в фармацевтических композициях, описанных в настоящем описании, может дополнительно содержать один или несколько фармацевтически приемлемых наполнителей. Как правило, фармацевтически приемлемые наполнители представляют собой фармакологически неактивные вещества. Неограничивающие примеры наполнителей включают лактозу, глицерин, ксилит, сорбит, маннит, мальтозу, инозитол, трегалозу, глюкозу, бычий сывороточный альбумин (BSA), декстран, поливинилацетат (PVA), гидроксипропилметилцеллюлозу (HPMC), полиэтиленгликоль (PEG), желатин, поливинилпирролидон (PVP), гидроксипропилцеллюлозу (HPC), полиэтиленгликоль (PEG), этиленгликоль, глицерин, диметилсульфоксид (DMSO), диметилформамид (DMF), монолаурат полиоксиэтиленсорбитана (Tween-20), моноолеат полиоксиэтиленсорбитана (Tween-80), додецилсульфат натрия

(SDS), полисорбат, сополимер полиоксиэтилена, фосфат калия, ацетат натрия, сульфат аммония, сульфат магния, сульфат натрия, триметиламин-N-оксид, бетаин, ионы цинка, ионы меди, ионы кальция, ионы марганца, ионы магния, SHAPS, монолаурат сахарозы и 2-O-бета-манноглицерат. В некоторых вариантах осуществления, фармацевтически приемлемый носитель содержит наполнитель между приблизительно 0,001-0,1%, 0,001-0,05%, 0,005-0,1%, 0,005-0,05%, 0,008-0,05%, 0,008-0,03% или приблизительно 0,009-0,02%. В некоторых вариантах осуществления, наполнитель присутствует при приблизительно 0,005, 0,006, 0,007, 0,008, 0,009, 0,01, 0,02, 0,03, 0,04, 0,05, 0,06, 0,07, 0,08, 0,09% или приблизительно 0,1%. В некоторых вариантах осуществления, наполнитель представляет собой моноолеат полиоксиэтиленсорбитана (Tween-80). В одном примере, фармацевтически приемлемый носитель содержит 0,01% Tween-80.

В некоторых примерах, фармацевтическая композиция, описанная в настоящем описании, содержит антитело против pKal, как также описано в настоящем описании (например, DX-2930), и одно или несколько из фосфата натрия (например, дигидрата двухосновного фосфата натрия), лимонной кислоты (например, моногидрата лимонной кислоты), гистидина (например, L-гистидина), хлорида натрия и полисорбата 80. Например, фармацевтическая композиция может содержать антитело, фосфат натрия, лимонную кислоту, гистидин, хлорид натрия и полисорбат 80. В некоторых примерах, антитело составляют в приблизительно 30 мМ фосфате натрия, приблизительно 19 мМ лимонной кислоте, приблизительно 50 мМ гистидине, приблизительно 90 мМ хлориде натрия и приблизительно 0,01% полисорбате 80. Концентрация антитела (например, DX-2930) в композиции может составлять приблизительно 150 мг/мл или 300 мг/мл. В одном примере, композиция содержит или состоит из приблизительно 150 мг DX-2930 на 1 мл раствора, приблизительно 30 мМ дигидрата двухосновного фосфата натрия, приблизительно 19 мМ (например, 19,6 мМ) моногидрата лимонной кислоты, приблизительно 50 мМ L-гистидина, приблизительно 90 мМ хлорида натрия и приблизительно 0,01% полисорбата 80. В другом примере, композиция содержит или состоит из приблизительно 300 мг DX-2930 на 1 мл раствора, приблизительно 30 мМ дигидрата двухосновного фосфата натрия, приблизительно 19 мМ (например, 19,6 мМ) моногидрата лимонной кислоты, приблизительно 50 мМ L-гистидина, приблизительно 90 мМ хлорида натрия и приблизительно 0,01% полисорбата 80.

Фармацевтически приемлемая соль представляет собой соль, сохраняющую желательную биологическую активность соединения и не оказывающую каких-либо нежелательных токсических эффектов (см., например, Berge, S.M., et al., 1977, J. Pharm Sci. 66:1-19). Примеры таких солей включают кислотно-аддитивные соли и основно-аддитивные соли. Кислотно-аддитивные соли включают соли, полученные из нетоксичных неорганических кислот, таких как соляная, азотная, фосфорная, серная, бромистоводородная, иодистоводородная, фосфористая и т.п., так же как из нетоксичных органических кислот, таких как алифатические моно- и дикарбоновые кислоты, фенил-замещенные алкановые кислоты, гидроксиалкановые кислоты, ароматические кислоты, алифатические и ароматические сульфоновые кислоты, и т.п. Основно-аддитивные соли включают соли, полученные из щелочноземельных металлов, таких как натрий, калий, магний, кальций и т.п., так же как из нетоксичных органических аминов, таких как N, N'-дибензилэтилендиамин, N-метилглукосамин, хлорпрокаин, холин, диэтаноламин, этилендиамин, прокаин и т.п.

Композиции могут находиться во множестве форм. Они включают, например, жидкие, полутвердые и твердые лекарственные формы, такие как жидкие растворы (например, инъекционные и инфузионные растворы), дисперсии или суспензии, таблетки, пилюли, порошки, липосомы и суппозитории. Форма может зависеть от намеченного способа введения и терапевтического применения. Многие композиции находятся в форме инъекционных или инфузионных растворов, таких как композиции, сходные с композициями, используемыми для введения людям антител. Иллюстративным способом введения является парентеральное (например, внутривенное, подкожное, внутривенное, внутримышечное). В одном варианте осуществления, связывающий калликреин плазмы белок вводят посредством внутривенной инфузии или инъекции. В другом варианте осуществления, связывающий калликреин плазмы белок вводят посредством внутримышечной инъекции. В другом варианте осуществления, связывающий калликреин плазмы белок вводят посредством подкожной инъекции. В другом предпочтительном варианте осуществления, связывающий калликреин плазмы белок вводят посредством внутривенной инъекции.

Фразы "парентеральное введение" и "вводимый парентерально", в рамках изобретения, означают способы введения, отличные от энтерального и местного введения, как правило, посредством инъекции, и включают, без ограничения, внутривенное, внутримышечное, внутриаортальное, интратекальное, интракапсулярное, интраорбитальное, внутрисердечное, внутрикожное, внутривенное, транстрахеальное, подкожное, субкутикулярное, внутрисуставное, субкапсулярное, субарахноидальное, интраспинальное, эпидуральное и интратеральное введение и инфузию. В некоторых вариантах осуществления, антитело вводят подкожно.

Композицию можно составлять в форме раствора, микроэмульсии, дисперсии, липосомы, или другой упорядоченной структуры, подходящей для высокой концентрации лекарственного средства. Стерильные инъекционные растворы можно получать посредством включения связывающего белка в необ-

ходимом количестве в подходящий растворитель с одним или комбинацией ингредиентов, перечисленных выше, при необходимости, с последующей стерилизацией фильтрацией. Как правило, дисперсии получают посредством включения активного соединения в стерильный носитель, содержащий основную дисперсионную среду и необходимые другие ингредиенты из перечисленных выше. В случае стерильных порошков для получения стерильных инъеклируемых растворов, предпочтительными способами получения являются вакуумная сушка и лиофилизация, посредством которой получают порошок активного ингредиента плюс любого дополнительного желательного ингредиента из их ранее простерилизованного фильтрацией раствора. Надлежащую текучесть раствора можно поддерживать, например, с использованием покрытия, такого как лецитин, посредством поддержания необходимого размера частиц в случае дисперсии и с использованием поверхностно-активных веществ. Длительной абсорбции инъеклируемых композиций можно достигать посредством включения в композицию средства, замедляющего абсорбцию, например, моностеаратных солей и желатина.

Антитело, как описано в настоящем описании (например, DX-2930), можно вводить множеством способов, включая внутривенную инъекцию или инфузию. Например, для некоторых терапевтических применений, антитело можно вводить посредством внутривенной инфузии со скоростью менее чем 30, 20, 10, 5 или 1 мг/мин для достижения дозы приблизительно 1-100 мг/м<sup>2</sup> или 7-25 мг/м<sup>2</sup>. Путь и/или способ введения можно менять, в зависимости от желательных результатов. В конкретных вариантах осуществления, активное соединение можно получать с использованием носителя, который может защищать соединение от быстрого высвобождения, такого как состав с контролируемым высвобождением, включая имплантаты и микроинкапсулированные системы доставки. Можно использовать биоразлагаемые, биосовместимые полимеры, такие как этиленвинилацетат, полиангидриды, полигликолевая кислота, коллаген, полиортоэфир и полимолочная кислота. Доступно множество способов получения таких составов. См., например, *Sustained and Controlled Release Drug Delivery Systems*, J.R. Robinson, ed., 1978, Marcel Dekker, Inc., New York.

Фармацевтические композиции можно вводить с помощью медицинских устройств. Например, в одном из вариантов осуществления, фармацевтическую композицию, описанную в настоящем описании, можно вводить с использованием устройства, например, безыгольного подкожного инъекционного устройства, насоса или имплантата.

В конкретных вариантах осуществления, антитело, как описано в настоящем описании (например, DX-2930), можно составлять для обеспечения надлежащего распределения *in vivo*. Например, гематоэнцефалический барьер (BBB) исключает многие высоко гидрофильные соединения. Для обеспечения того, чтобы терапевтические соединения, описанные в настоящем описании, пересекали BBB (если желательно), их можно составлять, например, в липосомах. Способы изготовления липосом см., например, в Патентах США No. 4522811; 5374548; и 5399331. Липосомы могут содержать одну или несколько групп, избирательно транспортируемых в специфические клетки или органы, таким образом, улучшая направленную доставку лекарственного средства (см., например, V.V. Ranade, 1989, *J. Clin. Pharmacol.* 29:685).

Режимы дозирования корректируют для обеспечения оптимального желаемого ответа (например, терапевтического ответа). Например, можно вводить однократный болюс, можно вводить несколько дробных доз с течением времени, или дозу можно пропорционально уменьшать или увеличивать, как показано по потребностям терапевтической ситуации. Является особенно предпочтительным составлять парентеральные композиции в единичной дозированной форме для простоты введения и единообразия дозирования. Единичная дозированная форма, в рамках изобретения, относится к физически дискретным единицам, подходящим в качестве единичных доз для субъектов, подлежащих лечению; каждая единица содержит предопределенное количество активного соединения, рассчитанное для получения желательного терапевтического эффекта, в ассоциации с необходимым фармацевтическим носителем. Спецификация единичных дозированных форм может быть продиктована и напрямую зависеть от (а) уникальных характеристик активного соединения и конкретного терапевтического эффекта, подлежащего достижению, и (b) ограничений, характерных для области смешивания такого активного соединения, для лечения чувствительности у индивидуумов.

Иллюстративный, неограничивающий диапазон для терапевтически или профилактически эффективного количества антитела, как описано в настоящем описании (например, DX-2930), составляет приблизительно 150 мг или 300 мг. Как понятно специалисту в данной области, терапевтически или профилактически эффективное количество антитела может быть ниже для субъекта детского возраста, чем для взрослого субъекта. В некоторых вариантах осуществления, эффективное количество, которое вводят субъекту детского возраста, представляет собой фиксированную дозу или основанную на массе дозу. В некоторых вариантах осуществления, эффективное количество, составляющее менее чем приблизительно 150 мг или 300 мг, вводят субъекту детского возраста. В некоторых вариантах осуществления, терапевтически или профилактически эффективное количество антитела вводят каждые две недели или каждые четыре недели в течение первого периода лечения. В некоторых вариантах осуществления, антитело можно вводить субъекту в течение второго периода лечения. В некоторых вариантах осуществления, терапевтически или профилактически эффективное количество антитела в первом периоде лечения отличается от терапевтически или профилактически эффективного количества антитела во втором периоде



лечения. В некоторых вариантах осуществления, терапевтически или профилактически эффективное количество антитела в первом периоде лечения составляет 150 мг, и терапевтически или профилактически эффективное количество антитела во втором периоде лечения составляет 300 мг. В некоторых вариантах осуществления, терапевтически или профилактически эффективное количество антитела в первом периоде лечения является таким же, как терапевтически или профилактически эффективное количество антитела во втором периоде лечения. В одном примере, терапевтически или профилактически эффективное количество антитела в первом периоде лечения и втором периоде лечения составляет 300 мг.

В некоторых вариантах осуществления, иллюстративный, неограничивающий диапазон для терапевтически или профилактически эффективного количества антитела, как описано в настоящем описании (например, DX-2930), составляет приблизительно 300 мг. В некоторых вариантах осуществления, терапевтически или профилактически эффективное количество антитела вводят в однократной дозе. Если субъект испытывает приступ НАЕ, антитело можно далее вводить субъекту в множественных дозах, например, в дозах приблизительно 300 мг, вводимых каждые две недели.

#### Наборы.

Антитело, как описано в настоящем описании (например, DX-2930), можно предоставлять в наборе, например, в форме компонента набора. Например, набор включает (а) антитело DX-2930, например, композицию (например, фармацевтическую композицию), включающую антитело, и, необязательно (b) информационный материал. Информационный материал может представлять собой описательный, инструктивный, маркетинговый или другой материал, относящийся к способу, описанному в настоящем описании, и/или к применению антитела, как описано в настоящем описании (например, DX-2930), например, для способа, описанного в настоящем описании. В некоторых вариантах осуществления, набор включает одну или несколько доз DX-2930. В некоторых вариантах осуществления, одна или несколько доз составляют 150 мг или 300 мг.

Информационный материал из набора не ограничен в своей форме. В одном варианте осуществления, информационный материал может включать информацию о получении соединения, молекулярной массе соединения, концентрации, сроке годности, партии или месте получения, и т.д. В одном варианте осуществления, информационный материал относится к применению антитела для лечения, профилактики или диагностики нарушений и состояний, например, заболевания или состояния, ассоциированного с калликреином плазмы.

В одном варианте осуществления, информационный материал может включать инструкции по введению антитела, как описано в настоящем описании (например, DX-2930), подходящим образом для осуществления способов, описанных в настоящем описании, например, в подходящей дозе, лекарственной форме, способе введения или расписании дозирования (например, дозе, лекарственной форме, схеме дозирования или способе введения, описанных в настоящем описании). В другом варианте осуществления, информационный материал может включать инструкции по введению антитела, как описано в настоящем описании (например, DX-2930), подходящему субъекту, например, человеку, например, человеку, страдающему от или подверженному риску развития заболевания или состояния, ассоциированного с калликреином плазмы. Например, материал может включать инструкции по введению антитела, как описано в настоящем описании (например, DX-2930), пациенту с нарушением или состоянием, описанным в настоящем описании, например, заболеванием, ассоциированным с калликреином плазмы, например, в соответствии с расписанием дозирования, описанным в настоящем описании. Информационный материал из наборов не ограничен в своей форме. Во многих случаях информационный материал, например, инструкции, представлен в печатном виде, но также может находиться в других форматах, таких как машиночитаемый материал.

Антитело, как описано в настоящем описании (например, DX-2930), можно предоставлять в любой форме, например, жидкой, высушенной или лиофилизированной форме. Является предпочтительным, чтобы антитело являлось по существу чистым и/или стерильным. Когда антитело предоставлено в жидком растворе, жидкий раствор, предпочтительно, представляет собой водный раствор, где стерильный водный раствор является предпочтительным. Когда антитело предоставлено в высушенной форме, разведение, как правило, осуществляют посредством добавления подходящего растворителя. Растворитель, например, стерильную воду или буфер, можно, необязательно, предоставлять в наборе.

Набор может включать один или несколько контейнеров для композиции, содержащей антитело, как описано в настоящем описании (например, DX-2930). В некоторых вариантах осуществления, набор содержит отдельные контейнеры, разделители или отделения для композиции и информационного материала. Например, композиция может содержаться в бутылке, флаконе или шприце, и информационный материал может содержаться вместе с контейнером. В других вариантах осуществления, отдельные элементы набора содержатся в едином неразделенном контейнере. Например, композиция содержится в бутылке, флаконе или шприце с прикрепленным информационным материалом в форме ярлыка. В некоторых вариантах осуществления, набор включает множество (например, упаковку) индивидуальных контейнеров, каждый из которых содержит одну или несколько единичных дозированных форм (например, лекарственную форму, описанную в настоящем описании) антитела, как описано в настоящем описании (например, DX-2930). Например, набор включает множество шприцов, ампул, фольгированных пакетов

или блистерных упаковок, каждый из которых содержит однократную единичную дозу антитела, как описано в настоящем описании (например, DX-2930). Контейнеры из наборов могут являться герметизированными, водонепроницаемыми (например, непроницаемыми для изменений влажности или испарения) и/или светонепроницаемыми.

Набор, необязательно, включает устройство, подходящее для введения композиции, например, шприц или любое такое устройство для доставки. В одном варианте осуществления, устройство представляет собой имплантируемое устройство, с помощью которого распределяют отмеренные дозы антитела. Настоящее изобретение также относится к способу получения набора, например, посредством комбинирования компонентов, описанных в настоящем описании.

Лечение.

В некоторых аспектах, настоящее изобретение относится к применению антитела, как описано в настоящем описании (например, DX-2930), в лечении НАЕ.

(i) Наследственный ангиоотек (НАЕ).

Наследственный ангиоотек (НАЕ) также известен как "отек Квинке", недостаточность ингибитора C1-эстеразы, недостаточность ингибитора C1 и наследственный ангионевротический отек (НАНЕ). НАЕ характеризуется непредсказуемыми, рецидивирующими приступами тяжелого подкожного или подслизистого отека (ангиоотека), который может поражать, например, конечности, лицо, гениталии, желудочно-кишечный тракт и дыхательные пути (Zuraw, 2008). Симптомы НАЕ включают, например, отек рук, ног, губ, глаз, языка и/или горла; блокаду дыхательных путей, которая может включать отек горла (гортани), внезапную хрипоту и/или вызывать смерть от асфиксии (Bork et al., 2012; Bork et al., 2000). Приблизительно 50% из всех пациентов с НАЕ испытывают приступ в гортани на протяжении жизни, и не существует способа прогнозирования, какие пациенты подвержены риску приступа в гортани (Bork et al., 2003; Bork et al., 2006). Симптомы НАЕ включают также повторяющиеся эпизоды абдоминальных спазмов без очевидной причины; и/или отек кишечника, который может являться тяжелым и может приводить к абдоминальным спазмам, рвоте, дегидратации, диарее, боли, шоку и/или симптомам в кишечнике, напоминающим абдоминальные неотложные состояния, которые могут приводить к ненужному хирургическому вмешательству (Zuraw, 2008). Отек может продолжаться вплоть до пяти или более суток. Приблизительно у трети индивидуумов с НАЕ в течение приступа развивается незудящая сыпь под названием ревматическая эритема. Большинство пациентов страдают от множества приступов в год.

НАЕ представляет собой орфанное нарушение, точная распространенность которого неизвестна, однако, современные оценки лежат в диапазоне от 1 на 10000 до 1 на 150000 индивидуумов, при этом многие авторы согласны, что 1 на 50000, вероятно, является наиболее близкой оценкой (Bygum, 2009; Goring et al., 1998; Lei et al., 2011; Nordenfelt et al., 2014; Roche et al., 2005).

Калликреин плазмы играет критическую роль в патогенезе приступов НАЕ (Davis, 2006; Kaplan and Joseph, 2010). В нормальной физиологии, C1-INH регулирует активность калликреина плазмы, так же как множества других протеаз, таких как C1r, C1s, фактор XIa и фактор XIIa. Калликреин плазмы регулирует высвобождение брадикинина из высокомолекулярного кининогена (HMWK). Из-за недостаточности C1-INH при НАЕ, возникает неконтролируемая активность калликреина плазмы и приводит к избыточному образованию брадикинина. Брадикинин представляет собой сосудорасширяющий агент, который, как считают, ответственен за характерные симптомы НАЕ из числа локализованного отека, воспаления и боли (Craig et al., 2012; Zuraw et al., 2013).

Отек дыхательных путей может угрожать жизни и вызывать гибель некоторых пациентов. Коэффициенты смертности оценивают как 15-33%. НАЕ приводит к приблизительно 15000-30000 посещениям отделений неотложной помощи в год.

Травма или стресс, например, стоматологические процедуры, болезнь (например, вирусные заболевания, такие как простуда и грипп), менструация и хирургическое вмешательство могут запускать приступ ангионевротического отека. Для предотвращения острых приступов НАЕ, пациенты могут пытаться избегать конкретных стимулов, ранее вызывавших приступы. Однако, во многих случаях приступ происходит в отсутствие известного пускового фактора. Как правило, симптомы НАЕ впервые появляются в детстве и ухудшаются в течение полового созревания. В среднем, не подвергнутые лечению индивидуумы имеют приступы каждые 1-2 недели, и большинство эпизодов длятся в течение приблизительно 3-4 суток ([ghr.nlm.nih.gov/condition/hereditary-angioedema](http://ghr.nlm.nih.gov/condition/hereditary-angioedema)). Частота и длительность приступов значительно меняются среди людей с наследственным ангионевротическим отеком, даже среди людей в одной семье.

Существует три типа НАЕ, известных как типы I, II, и III, все из которых можно лечить способами, описанными в настоящем описании. По оценкам, НАЕ поражает 1 на 50000 человек, при этом тип I насчитывает приблизительно 85 процентов случаев, тип II насчитывает приблизительно 15 процентов случаев, и тип III является очень редким. Тип III является самым новым из описанных форм, и первоначально считали, что он развивается только у женщин, но идентифицированы семьи с пораженными мужчинами.

НАЕ наследуется по аутосомно-доминантному типу, таким образом, что пораженный индивидуум может наследовать мутацию от одного пораженного родителя. Также могут возникать новые мутации в гене, и таким образом, НАЕ может также возникать у людей без этого нарушения в семейном анамнезе.

Оценивают, что 20-25% случаев являются результатом новой спонтанной мутации.

Мутации в гене SERPING1 вызывают наследственный ангионевротический отек типа I и типа II. Ген SERPING1 обеспечивает инструкции для образования белка-ингибитора C1, который является важным для контроля воспаления. Ингибитор C1 блокирует активность конкретных белков, стимулирующих воспаление. Мутации, вызывающие наследственный ангионевротический отек типа I, приводят к пониженным уровням ингибитора C1 в крови. В отличие от этого, мутации, вызывающие тип II, приводят к продукции ингибитора C1, функционирующего аномально. Приблизительно 85% пациентов имеют НАЕ типа I, характеризующийся очень низкой продукцией функционально нормального белка C1-INH, в то время как оставшиеся приблизительно 15% пациентов имеют НАЕ типа II и продукцию нормальных или увеличенных уровней функционально нарушенного C1-INH (Zuraw, 2008). Без надлежащих уровней функционального ингибитора C1, избыточные количества брадикинина образуются из высокомолекулярного кининогена (HMWK), и существует увеличенное подтекание сосудов, опосредованное связыванием брадикинина с рецептором B2 (B2-R) на поверхности эндотелиальных клеток (Zuraw, 2008). Брадикинин способствует воспалению посредством проникновения жидкости через стенки кровеносных сосудов в ткани организма. Избыточное накопление жидкостей в тканях организма вызывает эпизоды отека, наблюдаемые у индивидуумов с наследственным ангионевротическим отеком типа I и типа II.

Мутации в гене F12 ассоциированы с некоторыми случаями наследственного ангионевротического отека типа III. Ген F12 обеспечивает инструкции для образования фактора свертывания XII. В дополнение к критической роли в свертывании крови (коагуляции), фактор XII также является важным стимулятором воспаления и вовлечен в продукцию брадикинина. Конкретные мутации в гене F12 приводят к продукции фактора XII с увеличенной активностью. В результате образуется больше брадикинина, и стенки кровеносных сосудов становятся более проницаемыми, что приводит к эпизодам отека. Причина других случаев наследственного ангионевротического отека типа III остается неизвестной. Мутации в одном или нескольких еще не идентифицированных генах могут являться ответственными за нарушение в этих случаях.

НАЕ может проявляться сходным образом с другими формами ангионевротического отека, возникающими в результате аллергии или других медицинских состояний, но значительно отличаются причиной и лечением. Если наследственный ангионевротический отек ошибочно диагностируют как аллергию, его чаще всего лечат антигистаминами, стероидами и/или эпинефрином, как правило, являющимися неэффективными при НАЕ, хотя в случае реакций, угрожающих жизни, можно использовать эпинефрин. Ошибочные диагнозы также приводят к ненужному диагностическому хирургическому вмешательству в случае пациентов с абдоминальным отеком, и у некоторых пациентов с НАЕ абдоминальную боль неправильно диагностируют как психосоматическую.

Подобно взрослым, дети с НАЕ могут страдать от рецидивирующих и истощающих приступов. Симптомы могут проявляться очень рано в детстве, и ангионевротический отек верхних дыхательных путей опубликован у пациентов с НАЕ в настолько раннем возрасте, как 3 года (Bork et al., 2003). В исследовании только случаев для 49 пациентов детского возраста с НАЕ, 23 страдали по меньшей мере от одного эпизода ангионевротического отека верхних дыхательных путей к возрасту 18 лет (Farkas, 2010). Существуют важные неудовлетворенные медицинские потребности для детей с НАЕ, особенно подростков, поскольку заболевание обычно ухудшается после полового созревания (Bennett and Craig, 2015; Zuraw, 2008).

Виды терапии с использованием ингибитора C1, так же как другие виды терапии для НАЕ, описаны в Kaplan, A.P., *J Allergy Clin Immunol*, 2010, 126(5):918-925.

Неотложное лечение приступов НАЕ проводят для прекращения прогрессирования отека настолько быстро, насколько это возможно. Концентрат ингибитора C1 из донорской крови, вводимый внутривенно, является одним из способов неотложного лечения; однако, это лечение недоступно во многих странах. В чрезвычайных ситуациях, когда концентрат ингибитора C1 недоступен, в качестве альтернативы можно использовать свежую замороженную плазму (FFP), поскольку она также содержит ингибитор C1.

Очищенный ингибитор C1, полученный из крови человека, используют в Европе с 1979 г. Несколько лекарственных средств на основе ингибитора C1 в настоящее время доступны в США, и два продукта ингибитора C1 в настоящее время доступны в Канаде. Беринерт P (CSL Behring), являющийся пастеризованным, одобрен F.D.A. в 2009 г. против острых приступов. Цинриз (ViroPharma), подвергнутый нанофильтрации, одобрен F.D.A. в 2008 г. для профилактики. Руцин (Pharming) представляет собой рекомбинантный ингибитор C1, находящийся в разработке, не несущий риск передачи инфекционного заболевания из-за переносимых с кровью патогенов.

Лечение острого приступа НАЕ также может включать лекарственные средства для обезболивания и/или вводимые IV жидкости.

Другие способы лечения могут стимулировать синтез ингибитора C1 или уменьшать потребление ингибитора C1. Андрогенные лекарственные средства, такие как даназол, могут уменьшать частоту и тяжесть приступов посредством стимуляции продукции ингибитора C1.

*Helicobacter pylori* может запускать абдоминальные приступы. Антибиотики для лечения инфекции *H. pylori* могут уменьшать абдоминальные приступы.

Более новые лекарственные средства воздействуют на контактный каскад. Экалантин (КАЛБИТОР®, DX-88, Duax) ингибирует калликреин плазмы и одобрен в США. Икатибант (ФИРАЗИР®, Shire) ингибирует рецептор брадикинина B2 и одобрен в Европе и США.

Диагноз НАЕ может быть основан, например, на семейном анамнезе и/или анализах крови. Результаты лабораторных тестов, ассоциированные с НАЕ типов I, II и III, описаны, например, в Kaplan, A.P., J Allergy Clin Immunol, 2010, 126(5):918-925. При НАЕ типа I уровень ингибитора C1 является уменьшенным, как и уровень C4, в то время как уровень C1q является нормальным. При НАЕ типа II уровень ингибитора C1 является нормальным или увеличенным, однако функция ингибитора C1 является аномальной. Уровень C4 является уменьшенным, и уровень C1q является нормальным. При типе III уровни ингибитора C1, C4 и C1q все могут являться нормальными.

Симптомы НАЕ можно оценивать, например, с использованием опросников, например, опросников, заполняемых пациентами, медицинскими работниками или членами семьи. Такие опросники известны в данной области и включают, например, визуальные аналоговые шкалы. См., например, McMillan, C.V. et al. Patient. 2012;5(2):113-26. В некоторых вариантах осуществления, субъект имеет НАЕ типа I или НАЕ типа II. НАЕ типа I или НАЕ типа II можно диагностировать с использованием любого способа, известного в данной области, например, по клиническому анамнезу, согласующемуся с НАЕ (например, эпизодам зудящего подкожного отека или отека слизистых), или диагностическому тестированию (например, функциональному тестированию C1-INH и оценке уровня C4).

(ii) Лечение НАЕ с использованием антител против rKcal.

Настоящее изобретение относится к способам лечения (например, облегчения, стабилизации или прекращения одного или нескольких симптомов) наследственного ангионевротического отека (НАЕ) посредством введения антитела, описанного в настоящем описании (например, терапевтически эффективного количества антитела, описанного в настоящем описании) субъекту, имеющему или, как подозревают, имеющему НАЕ, например, в соответствии с расписанием дозирования, описанным в настоящем описании. Кроме того, настоящее изобретение относится к способам лечения НАЕ посредством введения антитела, описанного в настоящем описании (например, терапевтически эффективного количества антитела, описанного в настоящем описании), например, в соответствии с расписанием дозирования, описанным в настоящем описании, или в комбинации со второй терапией, например, с использованием одного другого средства, например, описанного в настоящем описании. Настоящее изобретение также относится к способам предотвращения НАЕ или его симптома посредством введения антитела, описанного в настоящем описании (например, профилактически эффективного количества антитела, описанного в настоящем описании), субъекту, подверженному риску развития НАЕ (например, субъекту, имеющему члена семьи с НАЕ или генетическую предрасположенность к нему), например, в соответствии с расписанием дозирования, описанным в настоящем описании. В некоторых примерах, субъект может представлять собой пациента-человека, не имеющего симптомов НАЕ на момент лечения. В некоторых вариантах осуществления, субъект представляет собой пациента-человека, имеющего НАЕ типа I или НАЕ типа II. В некоторых вариантах осуществления, субъект представляет собой пациента-человека, испытавшего по меньшей мере два (например, 2, 3, 4, 5 или более) приступа НАЕ за год, предшествующий лечению.

В некоторых вариантах осуществления, субъект является женщиной. В некоторых вариантах осуществления, субъект является субъектом детского возраста. В некоторых вариантах осуществления, субъект является подростком в возрасте менее 18 лет. В некоторых вариантах осуществления, субъект является подростком в возрасте между 12 и 18 лет. В некоторых вариантах осуществления, субъект имеет возраст между 40 лет и менее чем 65 лет.

В некоторых вариантах осуществления, субъекта можно определять по полу. Например, в некоторых вариантах осуществления, субъект является женщиной.

В некоторых вариантах осуществления, субъекта-человека определяют по массе. В некоторых вариантах осуществления, субъект-человек имеет массу менее 50 кг. В некоторых вариантах осуществления, субъект-человек имеет массу между 50 кг и 75 кг. В некоторых вариантах осуществления, субъект-человек имеет массу между 75 кг и 100 кг. В некоторых вариантах осуществления, субъект-человек имеет массу 100 кг или более.

В некоторых вариантах осуществления, в любой из подгрупп пациентов-людей можно вводить антитело против rKcal (например, DX-2930) при приблизительно 300 мг каждые две недели. В других случаях, такому пациенту-человеку можно вводить антитело при приблизительно 150 мг каждые две или четыре недели. В других случаях, такому пациенту-человеку можно вводить антитело при приблизительно 300 мг каждые четыре недели.

В некоторых вариантах осуществления, субъекта-человека определяют по предшествующим приступам в гортани в анамнезе или их отсутствию. В некоторых вариантах осуществления, субъект испытал по меньшей мере один (например, 1, 2, 3, 4, 5 или более) приступ в гортани (т.е., приступ НАЕ гортани), предшествующий введению антител, описанных в настоящем описании. В некоторых вариантах осуществления, субъект не испытывал приступ в гортани, предшествующий введению антител, описан-

ных в настоящем описании.

Лечение включает введение в количестве, эффективном для смягчения, облегчения, изменения, устранения, ослабления, улучшения или подвергания воздействию нарушения, симптомов нарушения или предрасположенности к нарушению. Лечение может также задерживать начало, например, предотвращать начало, или предотвращать ухудшение заболевания или состояния.

Способы введения антител DX-2930 также описаны в "Фармацевтических композициях". Используемые подходящие дозы антитела могут зависеть от возраста и массы субъекта и конкретного используемого лекарственного средства. Антитело можно использовать в качестве конкурентных средств для ингибирования, уменьшения нежелательного взаимодействия, например, между калликреином плазмы и его субстратом (например, фактором XII или HMWK). Доза антитела может представлять собой количество, достаточное для блокирования 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99 или 99,9% активности калликреина плазмы у пациента, особенно в участке заболевания. В некоторых вариантах осуществления, 150 мг или 300 мг антитела вводят каждые две недели или каждые четыре недели. В некоторых вариантах осуществления, антитело вводят субъекту в первом периоде лечения, включающем введение 150 мг или 300 мг антитела каждые две недели или каждые четыре недели. В некоторых вариантах осуществления, антитело вводят субъекту во втором периоде лечения после первого периода лечения. В некоторых вариантах осуществления, 300 мг антитела вводят в однократной дозе. Если субъект испытывает приступ НАЕ после однократной дозы, антитело можно вводить при 300 мг каждые две недели.

В одном варианте осуществления, антитела используют для ингибирования активности (например, ингибирования по меньшей мере одной активности калликреина плазмы, например, уменьшения продукции фактора XIIIa и/или брадикинина) калликреина плазмы, например, *in vivo*. Связывающие белки можно использовать самостоятельно или конъюгированными со средством, например, цитотоксическим лекарственным средством, цитотоксином, ферментом или радиоактивным изотопом.

Антитела можно использовать напрямую *in vivo* для уничтожения экспрессирующих антиген клеток посредством природной комплементзависимой цитотоксичности (CDC) или антителозависимой клеточной цитотоксичности (ADCC). Антитела, описанные в настоящем описании, могут включать связывающий комплемент эффекторный домен, такой как части Fc из IgG1, -2 или -3, или соответствующие части IgM, связывающие комплемент. В одном варианте осуществления, популяцию клеток-мишеней обрабатывают *ex vivo* с использованием антитела, описанного в настоящем описании, и подходящих эффекторных клеток. Обработку можно дополнять добавлением комплемента или сыворотки, содержащей комплемент. Кроме того, фагоцитоз клеток-мишеней, покрытых антителом, описанным в настоящем описании, можно улучшать посредством связывания белков комплемента. В другом варианте осуществления, клетки-мишени, покрытые антителом, включающим связывающий комплемент эффекторный домен, лизируют с помощью комплемента.

Способы введения антител DX-2930 описаны в "Фармацевтических композициях". Подходящие дозы используемых молекул могут зависеть от возраста и массы субъекта и конкретного используемого лекарственного средства. Антитела можно использовать в качестве конкурентных средств для ингибирования или снижения нежелательного взаимодействия, например, между природным или патологическим агентом и калликреином плазмы.

Терапевтически эффективное количество антитела, как описано в настоящем описании, можно вводить субъекту, имеющему, как подозревают, имеющему, или подверженному риску НАЕ, таким образом, осуществляя лечение (например, облегчение или улучшение симптома или облегчение, замедление, стабилизацию и/или задержку прогрессирования заболевания) нарушения.

Антитело, описанное в настоящем описании, можно вводить в терапевтически эффективном количестве. Терапевтически эффективное количество антитела представляет собой количество, эффективное после введения однократной или множественных доз субъекту, в лечении субъекта, например, излечении, ослаблении, облегчении или улучшении по меньшей мере одного симптома нарушения у субъекта до степени, превышающей степень, ожидаемую в отсутствие такого лечения.

Режимы дозирования можно корректировать для обеспечения оптимального желательного ответа (например, терапевтического ответа). Например, можно вводить однократный болюс, можно вводить несколько дробных доз с течением времени, или дозу можно пропорционально уменьшать или увеличивать, как показано по потребностям терапевтической ситуации. В других примерах, можно вводить болюс, с последующими несколькими дозами с течением времени, или дозу можно пропорционально уменьшать или увеличивать, как показано по потребностям терапевтической ситуации. В других примерах, дозу можно разделять на несколько доз и вводить с течением времени. Является особенно предпочтительным составлять парентеральные композиции в единичной дозированной форме для простоты введения и единообразия дозирования. Единичная дозированная форма, в рамках изобретения, относится к физически дискретным единицам, подходящим в качестве единичных доз для субъектов, подлежащих лечению; каждая единица содержит predetermined количество активного соединения, рассчитанное для получения желательного терапевтического эффекта, в ассоциации с необходимым фармацевтическим носителем.

В некоторых вариантах осуществления, антитело, как описано в настоящем описании, вводят в не-



28, сутки 56, сутки 84, сутки 112, сутки 140 и сутки 168. В другом примере, первый период лечения составляет 26 недель, и антитело вводят на сутки 0, сутки 14, сутки 28, сутки 42, сутки 56, сутки 70, сутки 84, сутки 98, сутки 112, сутки 126, сутки 140, сутки 154 и сутки 168. Специалисту в данной области понятно, что перечисленное расписание лечения позволяет окно  $\pm 4$  суток (например,  $\pm 3$  суток,  $\pm 2$  суток или  $\pm 1$  сутки). Например, доза, введенная на сутки 10-18, может быть включена в дозу на сутки 14, упомянутую выше.

В некоторых вариантах осуществления, терапевтически или профилактически эффективное количество вводят в некотором режиме дозирования в ходе второго периода лечения после первого периода лечения. В некоторых вариантах осуществления, терапевтически или профилактически эффективное количество отличается в первом периоде лечения и втором периоде лечения. В некоторых вариантах осуществления, терапевтически или профилактически эффективное количество для второго периода лечения составляет приблизительно 300 мг. В ходе этого периода, антитело можно вводить в множественных дозах приблизительно по 300 мг, например, 300 мг, вводимые каждые две недели. В некоторых вариантах осуществления, во втором периоде лечения, множественные дозы антитела вводят по меньшей мере два раза, по меньшей мере три раза, по меньшей мере четыре раза, по меньшей мере пять раз, по меньшей мере шесть раз, по меньшей мере семь раз, по меньшей мере восемь раз, по меньшей мере девять раз, по меньшей мере десять раз, по меньшей мере одиннадцать раз, по меньшей мере двенадцать раз, по меньшей мере тринадцать раз. В некоторых вариантах осуществления, второй период лечения составляет 26 недель. В некоторых вариантах осуществления, антитело вводят в дозе приблизительно 300 мг каждые две недели в течение 26 недель (например, получая доставку 13 доз). В некоторых вариантах осуществления, однократную первую дозу из второго периода лечения вводят приблизительно через две недели после последней дозы из первого периода лечения.

В любом из вариантов осуществления, описанных в настоящем описании, временные рамки введения антитела являются приблизительными и могут включать трое суток до и трое суток после указанных суток (например, введение каждые две недели включает введение на сутки 11, сутки 12, сутки 13, сутки 14, сутки 15, сутки 16 или сутки 17).

В некоторых вариантах осуществления, антитело, как описано в настоящем описании, вводят в однократной дозе приблизительно 300 мг субъекту, подвергнутому предшествующему лечению НАЕ (первому лечению), такому как лечение множеством доз такого же антитела против rKcal, как описано в настоящем описании (например, DX-2930). Если субъект испытывает приступ НАЕ после однократной дозы, субъекта можно подвергать лечению антителом в множественных дозах при приблизительно 300 мг каждые две недели в течение подходящего периода, например, 26 недель. В некоторых вариантах осуществления, первую из множественных доз вводят в пределах одной недели от приступа НАЕ (например, в пределах 1 суток, 2, суток, 3 суток, 4 суток, 5 суток, 6 суток или 7 суток от приступа НАЕ). В некоторых вариантах осуществления, антитело вводят по меньшей мере два раза, по меньшей мере три раза, по меньшей мере четыре раза, по меньшей мере пять раз, по меньшей мере шесть раз, по меньшей мере семь раз, по меньшей мере восемь раз, по меньшей мере девять раз, по меньшей мере десять раз, по меньшей мере одиннадцать раз, по меньшей мере двенадцать раз, по меньшей мере тринадцать раз или более.

Предшествующее лечение НАЕ может включать такое же антитело, как описано в настоящем описании (например, DX-2930). В некоторых вариантах осуществления, предшествующее лечение НАЕ может включать множественные дозы DX-2930 каждые две недели или каждые четыре недели. В некоторых вариантах осуществления, DX-2930 вводят субъекту (например, подкожно) при 150 мг каждые четыре недели, при 300 мг каждые две недели, или при 300 мг каждые четыре недели. В одном примере, субъекту ранее вводили антитело каждые две недели или четыре недели в течение 26 недель, предшествующих введению однократной дозы антитела. В некоторых вариантах осуществления, множественные дозы антитела из предшествующего лечения вводят по меньшей мере два раза, по меньшей мере три раза, по меньшей мере четыре раза, по меньшей мере пять раз, по меньшей мере шесть раз, по меньшей мере семь раз, по меньшей мере восемь раз, по меньшей мере девять раз, по меньшей мере десять раз, по меньшей мере одиннадцать раз, по меньшей мере двенадцать раз, по меньшей мере тринадцать раз. В некоторых вариантах осуществления, антитело ранее вводили на сутки 0, сутки 28, сутки 56, сутки 84, сутки 112, сутки 140 и сутки 168. В некоторых вариантах осуществления, однократную дозу приблизительно 300 мг антитела вводят приблизительно через две недели после последней дозы из предшествующего лечения. В одном примере, однократную дозу из второго периода лечения вводят на сутки 182 из первого периода лечения.

В любом из вариантов осуществления, описанных в настоящем описании, временные рамки введения антитела являются приблизительными и включают трое суток до и трое суток после указанных суток (например, введение каждые две недели включает введение на сутки 11, сутки 12, сутки 13, сутки 14, сутки 15, сутки 16 или сутки 17).

В некоторых вариантах осуществления, перед введением антитела, в соответствии с любым из способов, описанных в настоящем описании, субъекта можно оценивать для определения исходной частоты приступов НАЕ. Такой период оценки может быть обозначен как "подготовительный период". В некото-

рых вариантах осуществления, исходная частота приступов НАЕ должна соответствовать или превышать минимальное количество приступов НАЕ в данный период времени. В одном примере, субъект испытывает по меньшей мере один приступ НАЕ за четырехнедельный подготовительный период, предшествующий первому введению антитела. В другом примере, субъект испытывает между 1 и менее чем 2 приступами в месяц за четырехнедельный подготовительный период, предшествующий первому введению антитела. В другом примере, субъект испытывает между 2 и менее чем 3 приступами в месяц за четырехнедельный подготовительный период, предшествующий первому введению антитела. В другом примере, субъект испытывает 3 или более приступов в месяц за четырехнедельный подготовительный период, предшествующий первому введению антитела. В другом примере, субъект испытывает по меньшей мере два приступа НАЕ за восьминедельный подготовительный период, предшествующий первому введению антитела. В другом примере, субъект испытывает в среднем по меньшей мере один приступ НАЕ в месяц.

В некоторых вариантах осуществления, терапевтически или профилактически эффективное количество антитела (например, DX-2930) может составлять приблизительно 150 мг или 300 мг, и может быть введено субъекту, испытавшему между 1 и менее чем 2 приступами НАЕ в месяц за подготовительный период, предшествующий первому введению антитела, каждые две недели, каждые три недели, каждые четыре недели, каждые пять недель, каждые шесть недель, каждые семь недель, каждые восемь недель или дольше. В некоторых вариантах осуществления, терапевтически или профилактически эффективное количество антитела (например, DX-2930) может составлять приблизительно 150 мг или 300 мг, и может быть введено, испытавшему между 2 и менее чем 3 приступами НАЕ в месяц в подготовительный период, предшествующий первому введению антитела, каждые две недели, каждые три недели, каждые четыре недели, каждые пять недель, каждые шесть недель, каждые семь недель, каждые восемь недель или дольше. В некоторых вариантах осуществления, терапевтически или профилактически эффективное количество антитела (например, DX-2930) может составлять приблизительно 150 мг или 300 мг, и может быть введено субъекту, испытавшему более 3 приступов НАЕ в месяц за подготовительный период, предшествующий первому введению антитела, каждые две недели, каждые три недели, каждые четыре недели, каждые пять недель, каждые шесть недель, каждые семь недель, каждые восемь недель или дольше.

В некоторых вариантах осуществления, введение антитела в соответствии с любым из способов, описанных в настоящем описании приводит к уменьшению средней частоты приступов НАЕ у субъекта. В некоторых вариантах осуществления, процент уменьшения средней частоты приступов НАЕ после введения антитела в соответствии с любым из способов, описанных в настоящем описании можно определять, относительно частоты приступов НАЕ у субъектов, которым не вводили антитело (например, субъектов, которым вводили плацебо). В некоторых вариантах осуществления, процент уменьшения средней частоты приступов НАЕ может составлять по меньшей мере 10%, по меньшей мере 15%, по меньшей мере 20%, по меньшей мере 25%, по меньшей мере 30%, по меньшей мере 35%, по меньшей мере 40%, по меньшей мере 45%, по меньшей мере 50%, по меньшей мере 55%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 65%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90% или по меньшей мере 95%, относительно частоты приступов НАЕ у субъектов, которым не вводили антитело (например, субъектов, которым вводили плацебо).

Любые субъекты, описанные в настоящем описании, могли быть подвергнуты предшествующему лечению НАЕ, такому как профилактическое или терапевтическое лечение НАЕ. Аспекты настоящего изобретения также относятся к способам введения антитела, как описано в настоящем описании (например, DX-2930), субъекту, подвергнутому одному или нескольким предшествующим видам лечения НАЕ. В некоторых вариантах осуществления, предшествующее лечение НАЕ представляет собой лечение, включающее антитело, описанное в настоящем описании (например, DX-2930). В некоторых вариантах осуществления, субъекту ранее вводили множественные дозы DX-2930 каждые две недели или каждые четыре недели. В некоторых вариантах осуществления, субъекту ранее вводили DX-2930 при 150 мг каждые две недели. В некоторых вариантах осуществления, субъекту ранее вводили DX-2930 при 300 мг каждые две недели. В некоторых вариантах осуществления, субъекту ранее вводили DX-2930 при 300 мг каждые четыре недели. В некоторых вариантах осуществления, множественные дозы антитела из предшествующего лечения вводят по меньшей мере два раза, по меньшей мере три раза, по меньшей мере четыре раза, по меньшей мере пять раз, по меньшей мере шесть раз, по меньшей мере семь раз, по меньшей мере восемь раз, по меньшей мере девять раз, по меньшей мере десять раз, по меньшей мере одиннадцать раз, по меньшей мере двенадцать раз, по меньшей мере тринадцать раз.

В некоторых вариантах осуществления, субъекта подвергали одному или нескольким предшествующим видам лечения НАЕ, таким как длительное профилактическое лечение, которое может включать любое из лекарственных средств против НАЕ, известное в данной области. Иллюстративные средства против НАЕ включают, но без ограничения, ингибиторы С1 (например, цинриз®, беринерт® или руко-нест®), ингибиторы калликреина плазмы (например, калбитор®), ингибиторы рецептора брадикинина (например, фиразир®), ослабленные андрогены (например, даназол) и противофибринолитические сред-



ства (например, транексамовую кислоту). В некоторых вариантах осуществления, субъекта подвергали лечению с использованием ингибитора С1, предшествующему первому периоду лечения. В некоторых примерах, субъекта можно подвергать периоду снижения дозирования перед подверганием лечению антителом против рКa1, как описано в настоящем описании. Период снижения дозирования относится к периоду, предшествующему лечению антителом против рКa1, в ходе которого для субъекта, подвергаемого лечению против НАЕ (например, С1-INH, пероральным андрогеном и/или пероральным противотромбоцитическим средством), постепенно уменьшают дозу, частоту или и то, и другое, для средства против НАЕ, так что субъекта можно постепенно переводить от предшествующего лечения НАЕ к лечению антителом против рКa1, как описано в настоящем описании. В некоторых вариантах осуществления, снижение дозы включает способ постепенного или ступенчатого уменьшения дозы предшествующего лечения и/или частоты, с которой проводят предшествующее лечение. Период снижения дозирования может длиться 2-4 недели, и его можно менять, на основании факторов для индивидуального пациента. В некоторых примерах, предшествующее лечение прекращают до начала лечения антителом против рКa1. В других примерах, предшествующее лечение можно прекращать в подходящие временные рамки (например, 2 недели, 3 недели или 4 недели) после введения субъекту его или ее первой дозы антитела против рКa1.

Альтернативно, субъекта, подвергаемого предшествующему лечению НАЕ, можно переводить на лечение антителом против рКa1, как описано в настоящем описании, непосредственно без периода снижения дозирования.

В некоторых вариантах осуществления, терапевтически или профилактически эффективное количество антитела (например, DX-2930) может составлять приблизительно 150 мг или 300 мг, и может быть введено субъекту, подвергнутому одному или нескольким предшествующим видам лечения НАЕ, каждые две недели, каждые три недели, каждые четыре недели, каждые пять недель, каждые шесть недель, каждые семь недель, каждые восемь недель или дольше.

В других вариантах осуществления, субъект является свободным от любого предшествующего лечения НАЕ до первого лечения, первого периода лечения и/или последующих видов лечения однократными и множественными дозами, как описано в настоящем описании (второго периода лечения). В некоторых вариантах осуществления, субъект является свободным от любого лечения, отличного от лечения антителами, описанными в настоящем описании, во время первого периода лечения и/или во время второго периода лечения. В некоторых вариантах осуществления, субъект является свободным от любого предшествующего лечения НАЕ в течение по меньшей мере двух недель (например, по меньшей мере две, три, четыре, пять недель или более) до первого лечения или первого периода лечения, во время первого лечения или первого периода лечения, и/или во время второго периода лечения. В некоторых вариантах осуществления, субъект является свободным от длительной профилактики НАЕ (например, ингибитором С1, ослабленными андрогенами, противотромбоцитическими средствами) в течение по меньшей мере двух недель, предшествующих первому лечению или первому периоду лечения, во время первого периода лечения, и/или во время второго периода лечения. В некоторых вариантах осуществления, субъект является свободным от длительного приема ангиотензинпревращающего фермента (АСЕ), в течение по меньшей мере четырех недель, предшествующих первому лечению или первому периоду лечения, во время первого периода лечения, и/или во время второго периода лечения. В некоторых вариантах осуществления, субъект является свободным от содержащего эстроген лекарственного средства в течение по меньшей мере четырех недель, предшествующих первому лечению или первому периоду лечения, во время первого периода лечения, и/или во время второго периода лечения. В некоторых вариантах осуществления, субъект является свободным от андрогенов (например, станозолола, даназола, оксандролон, метилтестостерона, тестостерона) в течение по меньшей мере двух недель, предшествующих первому лечению или первому периоду лечения, во время первого периода лечения и/или во время второго периода лечения.

Любой из способов, описанных в настоящем описании, может дополнительно включать мониторинг пациента по побочным эффектам (например, увеличению уровней креатинфосфатазы) и/или уровням ингибирования рКa1 посредством антитела (например, концентрации антитела или уровню активности рКa1 в сыворотке или плазме) до и после лечения или в ходе лечения. Если наблюдают один или несколько неблагоприятных эффектов, дозу антитела можно уменьшать, или лечение можно прекращать. Если уровень ингибирования составляет менее минимального терапевтического уровня, пациенту можно вводить дополнительные дозы антитела. Пациентов можно также оценивать по образованию антитела против вводимого антитела; активности ингибитора С1, С4, и/или С1q; качеству жизни; частоте любых приступов НАЕ, связанному с состоянием здоровья качеству жизни, тревожности и/или депрессии (например, по Госпитальной шкале тревожности и депрессии (HADS)), работоспособности (например, по Опроснику для оценки нарушения работоспособности и повседневной деятельности (WPAI)), предпочтительности подкожного введения антитела (например, D-2930), по сравнению с другими инъекционными средствами, качеству жизни (например, качеству жизни при ангионевротическом отеке (AE-QOL), Европейской шкале качества жизни из 5 измерений (EuroQoL Group 5-dimension report)).

В некоторых вариантах осуществления, концентрацию антитела в плазме или сыворотке (например,

DX-2930) можно измерять в ходе лечения (например, после начальной дозы) для оценки эффективности лечения. Если концентрация антитела в плазме или сыворотке ниже приблизительно 80 нМ, может потребоваться последующая доза, которая может являться такой же или более высокой, чем исходная доза. Концентрацию антитела в плазме или сыворотке можно измерять посредством определения уровня белка антитела в образце плазмы или сыворотки, полученном от субъекта, например, посредством иммуноанализа или анализа MS. Концентрацию антитела в плазме или сыворотке также можно измерять посредством определения ингибирующего уровня pKal в образце плазмы или сыворотки, полученном от субъекта, подвергнутого лечению с использованием антитела. Такие анализы могут включать анализ синтетического субстрата или анализ вестерн-блоттинга для измерения расщепленного кининогена, как описано в настоящем описании.

Альтернативно или дополнительно, уровень креатинкиназы в плазме или сыворотке и/или один или несколько параметров свертывания крови (например, активированное частичное тромбопластиновое время (АРТВ), протромбиновое время (РТ), события кровотечения) можно мониторировать в ходе лечения. Если обнаружено, что уровень креатинкиназы в плазме или сыворотке увеличивается в ходе лечения, дозу антитела можно уменьшать, или лечение можно прекращать. Подобным образом, если обнаружено, что один или несколько параметров свертывания крови подвергнуты значительному влиянию в ходе лечения, дозу антитела можно модифицировать, или лечение можно прекращать.

В некоторых вариантах осуществления, оптимальную дозу (например, оптимальную профилактическую дозу или оптимальную терапевтическую дозу) антитела (например, DX-2930) можно определять следующим образом. Антитело вводят субъекту, нуждающемуся в лечении, в начальной дозе. Измеряют концентрацию антитела в плазме субъекта. Если концентрация в плазме ниже 80 нМ, дозу антитела увеличивают при последующем введении. Дозу антитела, поддерживающую концентрацию антитела в плазме выше приблизительно 80 нМ, можно выбирать в качестве оптимальной дозы для субъекта. Уровень креатинфосфокиназы у субъекта можно мониторировать в ходе лечения, и оптимальную дозу для этого субъекта можно дополнительно корректировать на основании уровня креатинфосфокиназы, например, дозу антитела можно уменьшать, если наблюдают увеличение уровня креатинфосфокиназы в ходе лечения.

(iii) Виды комбинированной терапии.

Антитело, как описано в настоящем описании (например, DX-2930), можно вводить в комбинации с одним или несколькими другими терапевтическими средствами для лечения заболевания или состояния, ассоциированного с активностью калликреина плазмы, например, заболевания или состояния, описанного в настоящем описании. Например, антитело, как описано в настоящем описании (например, DX-2930), можно использовать терапевтически или профилактически (например, до, во время или после курса лечения) с другим Fab или IgG против калликреина плазмы (например, другим Fab или IgG, описанным в настоящем описании), другим ингибитором калликреина плазмы, пептидным ингибитором, низкомолекулярным ингибитором или хирургическим вмешательством. Примеры ингибиторов калликреина плазмы, которые можно использовать в комбинированной терапии со связывающими калликреин плазмы антителами, описанными в настоящем описании, включают ингибиторы калликреина плазмы, описанные, например, в WO 95/21601 или WO 2003/103475.

Один или несколько ингибиторов калликреина плазмы можно использовать в комбинации с антителом, как описано в настоящем описании (например, DX-2930). Например, комбинация может приводить к снижению необходимой дозы ингибитора, так что побочные эффекты уменьшаются.

Антитело, как описано в настоящем описании (например, DX-2930), можно вводить в комбинации с одним или несколькими современными видами терапии для лечения НАЕ. Например, антитело DX-2930 можно использовать совместно со вторым лекарственным средством против НАЕ, таким как экалантин, ингибитор С1-эстеразы (например, цинриз<sup>™</sup>), апротинин (трасилол<sup>®</sup>) и/или ингибитор рецептора брадикинина В2 (например, икатибант (ФИРАЗИР<sup>®</sup>)).

Термин "комбинация" относится к использованию двух или более средств или видов терапии для лечения одного и того же пациента, где использование или действие средств или видов терапии прекращается по времени. Средства или виды терапии можно вводить одновременно (например, в форме одного состава, вводимого пациенту, или в форме двух отдельных составов, вводимых одновременно) или последовательно в любом порядке. Последовательные введения представляют собой введения, которые проводят в различное время. Время между введением одного средства и другого средства может составлять минуты, часы, дни или недели. Связывающее калликреин плазмы антитело, описанное в настоящем описании, также можно использовать для уменьшения дозы другого терапевтического средства, например, для уменьшения побочных эффектов, ассоциированных с другим вводимым средством. Соответственно, комбинация может включать введение второго средства в дозе, по меньшей мере на 10, 20, 30 или 50% ниже той, которую использовали бы в отсутствие связывающего калликреин плазмы антитела. В некоторых вариантах осуществления, субъекту можно вводить ингибитор С1 в качестве нагрузочной IV дозы или SC дозы, одновременно с первой дозой антитела против pKal (например, DX-2930), как описано в настоящем описании. Затем для субъекта можно продолжать лечение антителом против pKal

(без дополнительных доз ингибитора С1).

Комбинированная терапия может включать введение средства, уменьшающего побочные эффекты других видов терапии. Средство может представлять собой средство, уменьшающее побочные эффекты лечения заболевания, ассоциированного с калликреином плазмы.

(iv) Анализы для оценки режима лечения.

Настоящее изобретение относится также к способам оценки эффективности любого из способов лечения, описанных в настоящем описании. В некоторых вариантах осуществления, концентрацию в плазме или сыворотке одного или нескольких биомаркеров (например, 2-цепочечного НМВК), ассоциированных с НАЕ, можно измерять до и/или в ходе лечения (например, после начальной дозы) для оценки эффективности лечения. В некоторых вариантах осуществления, концентрацию (уровень) в плазме или сыворотке одного или нескольких биомаркеров, ассоциированных с НАЕ, полученную во временной точке после введения дозы, сравнивают с концентрацией биомаркера в образце, полученном в более ранней временной точке после введения дозы или предшествующей введению начальной дозы. В некоторых вариантах осуществления, биомаркер 2-НМВК.

Уровень биомаркера можно измерять посредством детекции биомаркера в образце плазмы или сыворотки, полученном от субъекта, например, посредством иммуноанализа, такого как анализ вестерн-блоттинга или ELISA, с использованием антитела, которое специфически детектирует биомаркер. В некоторых вариантах осуществления, уровень 2-НМВК в образце плазмы или сыворотки, полученном от субъекта, оценивают посредством иммуноанализа. Антитела для использования в иммуноанализах для детекции 2-НМВК известны в данной области, и выбор такого антитела для использования в способах, описанных в настоящем описании, очевиден специалисту в данной области.

Считают, что специалист в данной области, без дальнейшей разработки, может, на основании представленного выше описания, использовать настоящее изобретение в полной мере. Следующие конкретные варианты осуществления, таким образом, следует рассматривать просто как иллюстративные, а не ограничивающие остальную часть настоящего изобретения никаким образом. Полное содержание всех публикаций, процитированных в настоящем описании, приведено в качестве ссылки для целей или объекта, упоминаемых в настоящем описании.

### Примеры

Пример 1. Эффективность и безопасность лечения DX-2930 в субпопуляциях пациентов-людей.

Ланаделумаб представляет собой стерильный, не содержащий консервантов раствор для инъекции, pH 6,0. Активный ингредиент, антитело DX-2930, составлен с использованием следующих компонентов фармакопейной квалификации: 30 мМ дигидрата двухосновного фосфата натрия, 19,6 мМ моногидрата лимонной кислоты, 50 мМ L-гистидина, 90 мМ хлорида натрия, 0,01% полисорбата 80. Каждый флакон содержит номинальную концентрацию 150 мг активного ингредиента DX-2930 в 1 мл раствора. Тестируемый продукт вводят посредством подкожной (SC) инъекции в плечевую часть руки слепым способом.

Плацебо состоит из неактивного состава тестируемого продукта: 30 мМ дигидрата двухосновного фосфата натрия, 19,6 мМ моногидрата лимонной кислоты, 50 мМ L-гистидина, 90 мМ хлорида натрия, pH 6,0 с 0,01% полисорбатом 80. Дозы плацебо вводили субъектам, рандомизированным в группу обработки плацебо, и в промежутках между дозами DX-2930 для субъектов, рандомизированных в группы лечения 300 мг или 150 мг DX-2930 каждые 4 недели.

Пациентов в возрасте  $\geq 12$  лет с НАЕ типа I/II и  $\geq 1$  приступа/месяц в исходной точке рандомизировали 2:2:2:3 для ланаделумаба 150 мг каждые 4 недели (q4wks), 300 мг q4wks, 300 мг q2wks или плацебо. Исследовательские анализы планировали для подгрупп с адекватными количествами пациентов для регрессии Пуассона.

Следующие первичные и вторичные конечные точки эффективности оценивали от суток 14 до суток 182. Первичная конечная точка исследования представляла собой количество приступов НАЕ и среднюю частоту приступов НАЕ. Вторичные конечные точки включали, в порядке ранжирования:

1. Количество приступов НАЕ, требующих неотложного лечения.
2. Количество приступов НАЕ от умеренных до тяжелых.

Исследовательские конечные точки эффективности.

1. Время до первого приступа после суток 14, т.е., длительность отсутствия у субъекта приступов после суток 14 до его первого приступа.

2. Количество в неделю приступов НАЕ с высокой частотой осложнений; приступ НАЕ с высокой частотой осложнений определяют как любой приступ, имеющий по меньшей мере одну из следующих характеристик: тяжелый, приводит к госпитализации (за исключением госпитализации для обследования <24 часов), гемодинамически значимый (систолическое кровяное давление < 90, требует IV гидратации, или ассоциирован с обмороком или близким к обмороку состоянием) или затрагивающий гортань.

Клинические лабораторные тесты.

Пациентов, включенных в клиническое исследование, подвергали лабораторному тестированию, включающему общие параметры безопасности (гематологию, анализ свертывания крови, общий анализ мочи и химический анализ сыворотки), серологию, тесты на беременность, функциональный анализ C1-INH, анализ C4, анализ C1q, сбор образцов для ПК, тестирование антитела против лекарственного сред-

ства в плазме и сбор образцов для PD. Все лабораторные тесты проводили с использованием разработанных и подтвержденных способов.

Результаты.

Всего, 125 пациентов подвергали лечению с использованием ланаделумаба (n=84) или плацебо (n=41). Среднюю частоту приступов НАЕ определяли для всех пациентов и соответственно, для всех подгрупп пациентов. Среднее количество приступов НАЕ использовали для определения процента уменьшения средней частоты приступов НАЕ для пациентов, которым вводили DX-2930, по сравнению с пациентами, которым вводили плацебо. Частоты приступов НАЕ согласованно уменьшали с использованием DX-2930, по сравнению с плацебо, среди всех пациентов и подгрупп пациентов. Однако, как показано в табл. 2, больший процент уменьшения, по сравнению с обработкой плацебо, т.е., более терапевтически эффективное уменьшение, наблюдали для нескольких подгрупп пациентов, при введении DX-2930 при 300 мг каждые две недели, по сравнению с DX-2930 при 300 мг каждые четыре недели (или DX-2930 при 150 мг каждые четыре недели). Конкретно, пациенты в возрасте <18 лет, которым вводили DX-2930 при 300 мг каждые 4 недели, имели уменьшение на 20,5% частоты приступов НАЕ, по сравнению с плацебо; пациенты в возрасте <18 лет, которым вводили DX-2930 при 300 мг каждые 2 недели, имели дополнительное уменьшение частоты приблизительно на 42 процентные точки (62,3%) (фиг. 3А). Пациенты в возрасте 40 - <65 лет, которым вводили DX-2930 при 300 мг каждые 4 недели, имели уменьшение на 71,5% частоты приступов НАЕ, по сравнению с плацебо; пациенты в возрасте 40 - <65 лет, которым вводили DX-2930 при 300 мг каждые 2 недели, имели дополнительное уменьшение частоты приблизительно на 18 процентных точек (89,8%). Пациенты женского пола, которым вводили DX-2930 при 300 мг каждые 4 недели, имели уменьшение на 69,6% частоты приступов НАЕ, по сравнению с плацебо; пациенты женского пола, которым вводили DX-2930 при 300 мг каждые 2 недели, имели дополнительное уменьшение приблизительно на 16 процентных точек (85,8%). Пациенты с предшествующими приступами в гортани в анамнезе, которым вводили DX-2930 при 300 мг каждые 4 недели, имели уменьшение на 64,2% частоты приступов НАЕ, по сравнению с плацебо; пациенты с предшествующими приступами в гортани в анамнезе, которым вводили DX-2930 при 300 мг каждые 2 недели, имели дополнительное уменьшение приблизительно на 21 процентных точек (85,7%).

Таблица 2

Процент уменьшения в подгруппах пациентов, по сравнению с обработкой плацебо

	<b>DX-2930 при 300 мг каждые 4 недели</b>	<b>DX-2930 при 300 мг каждые 2 недели</b>
Возраст <18 лет	20,5%	62,3%
Возраст 18 - <40 лет	80,3%	84,5%
Возраст 40 - <65 лет	71,5%	89,8%
Мужчины	82,4%	90,3%
Женщины	69,6%	85,8%
Масса 50 - <75 кг	78,4%	93,1%
Масса 75 - <100 кг	74,0%	84,0%
Масса >100 кг	61,3%	82,7%
НАЕ типа I	73,4%	87,8%
НАЕ типа II	60,1%	69,8%
Предшествующие приступы в гортани	64,2%	85,7%
Без предшествующих приступов в гортани	85,8%	88,0%

В то время как все пациенты с НАЕ типа I/II, которых лечили с использованием ланаделумаба 300 мг q2wks или q4wks, испытывали клинически значимое и длительное уменьшение частоты приступов НАЕ, по сравнению с плацебо, для пациентов из конкретных субпопуляций, например, женщин, пациентов в возрасте <18 лет или между 40-65 лет, и пациентов, имевших по меньшей мере один предшествующий приступ в гортани, показана лучшая эффективность лечения при 300 мг каждые две недели.

Пациентов стратифицировали также на основании приступов НАЕ в ходе подготовительного периода для оценки эффективности каждого из режимов лечения ланаделумабом в этих подгруппах пациентов. Как показано в табл. 3-5 и на фиг. 1А-1С, каждый из режимов лечения ланаделумабом приводил к значительному уменьшению частоты приступов НАЕ, по сравнению с плацебо, среди всех подгрупп.

Таблица 3

Пациенты с 1 - &lt;2 приступами в месяц в подготовительном периоде (n=38)

Характеристика	Плацебо	Ланаделумаб		
		150 мг q4wks	300 мг q4wks	300 мг q2wks
<b>Частота приступов НАЕ в подготовительном периоде</b>				
n	12	10	9	7
Среднее (SD)	1,22 (0,37)	1,33 (0,45)	1,30 (0,47)	1,12 (0,36)
Медиана (мин., макс.)	1,0 (1,0, 1,9)	1,0 (1,0, 1,9)	1,0 (1,0, 1,9)	1,0 (1,0, 1,9)
<b>Частота приступов НАЕ в периоде лечения</b>				
n	12	10	9	7
Среднее (SD)	0,94 (0,49)	0,47 (0,69)	0,19 (0,21)	0,07 (0,08)
Медиана (мин., макс.)	1,02 (0,0, 1,7)	0,15 (0,0, 1,8)	0,15 (0,0, 0,5)	0,0 (0,0, 0,2)

Таблица 4

Пациенты с 2 - &lt;3 приступами в месяц в подготовительном периоде (n=22)

Характеристика	Плацебо	Ланаделумаб		
		150 мг q4wks	300 мг q4wks	300 мг q2wks
<b>Частота приступов НАЕ в подготовительном периоде</b>				
n	8	3	5	6
Среднее (SD)	2,31 (0,38)	2,49 (0,43)	2,27 (0,40)	2,50 (0,41)
Медиана (мин., макс.)	2,14 (2,0, 2,9)	2,67 (2,0, 2,8)	2,0 (2,0, 2,9)	2,59 (2,0, 2,9)
<b>Частота приступов НАЕ в периоде лечения</b>				
n	8	3	5	6
Среднее (SD)	2,12 (0,59)	0,20 (0,35)	0,49 (0,40)	0,25 (0,29)
Медиана (мин., макс.)	2,12 (1,2, 2,9)	0,0 (0,0, 0,6)	0,62 (0,0, 0,9)	0,15 (0,0, 0,6)

Таблица 5

Пациенты с  $\geq 3$  приступами в месяц в подготовительном периоде (n=65)

Характеристика	Плацебо	Ланаделумаб		
		150 мг q4wks	300 мг q4wks	300 мг q2wks
<b>Частота приступов НАЕ в подготовительном периоде</b>				
n	21	15	15	14
Среднее (SD)	6,27 (3,16)	4,62 (1,25)	5,63 (1,99)	5,16 (2,06)
Медиана (мин., макс.)	5,0 (3,0, 14,7)	4,0 (3,0, 6,7)	5,33 (3,0, 10,5)	4,08 (3,1, 9,0)
<b>Частота приступов НАЕ в периоде лечения</b>				
n	21	15	15	14
Среднее (SD)	3,45 (2,44)	0,55 (9,64)	0,89 (1,00)	0,45 (0,65)
Медиана (мин., макс.)	2,30 (0,8, 8,3)	0,30 (0,0, 2,0)	0,46 (0,0, 2,9)	0,15 (0,0, 1,8)

У пациентов, для которых использовали только ингибитор С1 (С1-INH) в качестве длительной профилактики, частота приступов от исходной точки увеличивалась, по сравнению с ретроспективной частотой (в ходе последних 3 месяцев), во время прекращения введения С1-INH по протоколу (фиг. 2А). Частота приступов в ходе лечения ланаделумабом была ниже ретроспективной частоты приступов. Частота приступов уменьшалась в среднем на 68,8, 59,3 и 82,1% в ходе лечения ланаделумабом 150 мг q4wks, 300 мг q4wks и 300 мг q2wks, соответственно, по сравнению с ретроспективной частотой приступов при длительной профилактике.

Присутствовал согласованный эффект лечения ланаделумабом у пациентов, для которых использовали только С1-INH для профилактики, и у пациентов, для которых не использовали длительной профилактики, по сравнению с плацебо, с использованием модели регрессии Пуассона (фиг. 2В). У пациентов для которых использовали только С1-INH для длительной профилактики перед введением ланаделумаба, средняя частота приступов значимо уменьшалась на 73,6, 71,6 и 82,5% в режимах ланаделумаба 150 мг q4wks, 300 мг q4wks и 300 мг q2wks, соответственно, по сравнению с плацебо ( $P < 0,001$  для всех сравнений).

Процент уменьшения частоты приступов НАЕ у субъектов, которым вводили ланаделумаб в каж-

дом из режимов дозирования, по сравнению с плацебо, оценивали для подгрупп субъектов, например, на основании возраста, пола, массы, типа НАЕ (например, типа I или типа II) и предшествующих приступов в гортани. Фиг. 4А-4Е и 5.

Ланаделумаб заметно супрессировал активацию pK $\alpha$ , как показано по его эффекту на уровни cNMWК. Оптимальные клинические ответы для режима фиксированной дозы 300 мг каждые две недели наблюдали у подростков и взрослых на протяжении большого диапазона массы тела.

Пример 2. Эффективность и безопасность лечения DX-2930 (ланаделумабом) у пациентов-людей подросткового возраста.

Эффективность и безопасность ланаделумаба, моноклонального антитела, нацеленного на калликреин плазмы, у подростков с НАЕ с недостаточностью ингибитора С1 исследовали в этом исследовании фазы 3 и в открытом расширенном исследовании (OLE).

Для исследования фазы 3, пациентов в возрасте  $\geq 12$  лет с  $\geq 1$  подтвержденным исследователем приступом/4 недели рандомизировали для плацебо или ланаделумаба 150 мг каждые 4 недели (150 мг q4w), 300 мг q4w или 300 мг q2w. В исследовании фазы 3, 10 из 125 пациентов (8%) являлись подростками (в возрасте  $\geq 12$  - <18 лет). До начала исследования фазы 3, 60,0% пациентам вводили только С1-INH для длительной профилактики.

Как правило, переведенных субъектов в открытом расширенном исследовании лечили с использованием ланаделумаба, следуя режиму лечения из исследования фазы 3 (т.е., 150 мг каждые 4 недели, 300 мг каждые 4 недели, 300 мг каждые 2 недели). В открытом расширенном исследовании, субъектам вводили однократную открытую дозу 300 мг ланаделумаба, вводимого подкожно на сутки 0. Субъекту не вводили никаких дополнительных доз ланаделумаба до первого зарегистрированного и подтвержденного исследователем приступа НАЕ. Когда переведенный субъект сообщал о его или ее первом приступе НАЕ, субъекту вводили вторую открытую дозу ланаделумаба, так быстро, насколько это возможно, с минимум 10 сутками между первой открытой дозой и второй открытой дозой. После второй дозы, переведенным субъектам продолжали повторяющееся подкожное введение открытой дозы 300 мг ланаделумаба каждые 2 недели в течение оставшейся длительности периода лечения для дозирования по расписанию. Период лечения длится 350 суток от даты первой открытой дозы.

Не переведенным субъектам в открытом расширенном исследовании вводят открытую дозу 300 мг ланаделумаба, вводимых подкожно на сутки 0, и продолжают подкожные введения открытой дозы 300 мг ланаделумаба каждые 2 недели в течение длительности периода лечения для дозирования по расписанию. Всего вводят 26 доз с последней дозой, вводимой при осмотре на сутки 350.

Для переведенных пациентов, 62,5% вводили только С1-INH до начала открытого расширенного исследования. Для не переведенных пациентов-подростков, 61,6% подвергали длительной профилактической терапии (только С1-INH или С1-INH и пероральной терапии) до начала исследования (только первичный С1-INH; 46,2%). Регистрировали ежемесячную частоту приступов (MAR) и других неблагоприятных событий, возникших в ходе лечения (TEAE).

Три субъекта-подростка имели 13 несерьезных неблагоприятных событий, возникших в ходе лечения (TEAE). В открытом расширенном исследовании, 21/212 пациентов (9,9%) являлись подростками. Переведенные пациенты (n=8) и не переведенные пациенты (n=13), соответственно, имели среднюю (SD) месячную частоту приступов 1,65 (1,158) и 1,54 (0,971) в исходной точке, и 0,35 (0,635) и 0,07 (0,166) в ходе периода лечения, т.е., средний (SD) процент изменения -84,371 (18,9415) и -94,893 (10,5230). Девять пациентов имели 65 несерьезных связанных с ланаделумабом TEAE.

Результаты этого исследования представлены в табл. 6 ниже. Обнаружено, что ланаделумаб являлся эффективным для уменьшения MAR и безопасным у подростков с НАЕ.

Таблица 6

Процент уменьшения у субъектов-подростков в возрасте между 12 лет и менее 18 лет

	Количество субъектов	Ежемесячная частота приступов в ходе подготовительного периода (стандартное отклонение)	Ежемесячная частота приступов в ходе периода лечения (стандартное отклонение)
Плацебо	4	1,825 (1,460)	0,917 (0,992)
150 мг каждые 4 недели	1	1,000	0,000
300 мг каждые 2 недели	3	0,989 (0,020)	0,304 (0,263)
300 мг каждые 2 недели	2	1,948 (1,341)	0,306 (0,433)

В исследовании фазы 3, более низкую оцененную по способу наименьших квадратов среднюю (SE) частоту приступов НАЕ наблюдали от суток 0 до суток 182 у пациентов, подвергнутых лечению ланаделумабом 300 мг q4wks (n=3; 0,436 [0,253]) или ланаделумабом 300 мг q2wks (n=2; 0,207 [0,148]), по сравнению с теми, которым вводили плацебо (n=4; 0,548 [0,224]). Это не оценивали в группе лечения 150 мг

q4wks, поскольку она включала только 1 пациента-подростка. Отношение рисков для оцененной по способу наименьших квадратов средней месячной частоты приступов (по сравнению с плацебо), с 95% CI, показывало преимущество лечения ланаделумабом, в частности, режима дозирования 300 мг q2wks (фиг. 3С). В открытом расширенном исследовании, средний (SD) процент изменения от исходного средней месячной частоты приступов составлял 84,37 (18,94) для переведенных пациентов (n=8; на стадии регулярного дозирования) и -94,89 (10,52) для не переведенных пациентов (n=13; фиг. 3В).

В исследовании фазы 3, 3 пациента-подростка имели 13 несерьезных связанных с ланаделумабом ТЕАЕ (таблица 7). Наиболее распространенными ТЕАЕ, возникшими у >1 пациента в ходе лечения ланаделумабом, являлись боль в участке инъекции (3 пациента) и сыпь (2 пациента). В открытом расширенном исследовании, 9 пациентов имели 65 несерьезных связанных с ланаделумабом ТЕАЕ на протяжении среднего выражения субъект-время 0,63 лет. Наиболее распространенными ТЕАЕ, возникшими у >1 пациента, являлись боль в участке инъекции (9 пациентов), вирусная инфекция верхних дыхательных путей (3 пациента), грипп (2 пациента), стрептококковый фарингит (2 пациента), инфекция верхних дыхательных путей (2 пациента), боль в области живота (2 пациента), и головная боль (2 пациента). Суммарно, наиболее распространенным ТЕАЕ, связанным с ланаделумабом, зарегистрированным у более >1 пациента, являлась боль в участке инъекции (3 пациента в исследовании фазы 3 и 8 пациентов в исследовании OLE; таблица 7). Они были сходными с идентифицированными в общей популяции в исследовании фазы 3.

Как в исследовании фазы 3, так и в его OLE, не присутствовало смертей или прекращений исследования из-за ТЕАЕ.

Таблица 7

ТЕАЕ (исключая приступы НАЕ) в ходе периода лечения для пациентов-подростков в исследовании фазы 3 и в его OLE

	Исследование фазы 3									
	Ланаделумаб									
	Плацебо		150 мг q4wks		300 мг q4wks		300 мг q2wks		Всего	
N	4		1		3		2		6	
	n(%)	m	n(%)	m	n(%)	m	n(%)	m	n(%)	m
Любое ТЕАЕ	2 (50,0)	6	1 (100,0)	3	2 (66,7)	4	2 (100,0)	23	5 (83,3)	30
Любое связанное ТЕАЕ	1 (25,0)	1	1 (100,0)	1	0 (0,0)	0	2 (100,0)	12	3 (50,0)	13
Любое серьезное ТЕАЕ*	0 (0,0)	0	0 (0,0)	0	0 (0,0)	0	1 (50,0)	1	1 (16,7)	1
Любое тяжелое ТЕАЕ*	0 (0,0)	0	0 (0,0)	0	0 (0,0)	0	1 (50,0)	1	1 (16,7)	1
Госпитализации из-за ТЕАЕ	0 (0,0)	0	0 (0,0)	0	0 (0,0)	0	1 (50,0)	1	1 (16,7)	1
	Расширенное исследование									
	Ланаделумаб									
		Переведенные пациенты				Не переведенные пациенты				Всего
N	8				13				21	
	n(%)				n(%)				n(%)	
Любое ТЕАЕ	7 (87,5)				11 (84,6)				18 (85,7)	
Любое связанное ТЕАЕ	2 (25,0)				7 (53,8)				9 (42,9)	
Любое серьезное ТЕАЕ*	0 (0,0)				0 (0,0)				0 (0,0)	
Любое тяжелое ТЕАЕ*	0 (0,0)				0 (0,0)				0 (0,0)	
Госпитализации из-за ТЕАЕ	0 (0,0)				0 (0,0)				0 (0,0)	

НАЕ: наследственный ангионевротический отек; m=количество событий; ТЕАЕ=неблагоприятное событие, возникшее в ходе лечения; q2wks=каждые 2 недели; q4wks=каждые 4 недели. ТЕАЕ показаны в ходе периода лечения (от суток 0 до суток 182) для исследования фазы 3. \*В исследовании фазы 3, серьезные или тяжелые ТЕАЕ не были связаны с ланаделумабом. Серьезные ТЕАЕ определяли как любое ТЕАЕ, приводящее к смерти, угрожающее жизни событие, незапланированную госпитализацию, длительную/значительную нетрудоспособность/инвалидность, важное медицинское событие или событие, представлявшее собой врожденную аномалию/порок развития. Тяжелые ТЕАЕ представляли собой

ТЕАЕ, классифицированные исследователем как тяжелое (степени 3, приводит к заметному ограничению активности, обычно с необходимостью некоторой посторонней помощи, с необходимостью медицинского вмешательства/терапии и/или возможной госпитализации) или угрожающее жизни (степени 4, приводит к необычайному ограничению активности, с необходимостью значительной посторонней помощи, с необходимостью значительного медицинского вмешательства/терапии и/или возможной госпитализацией/уходом в хосписе).

В заключение, введение ланаделумаба являлось хорошо переносимым и уменьшало месячную частоту приступов у субъектов-подростков в исследовании фазы 3 и открытом расширенном исследовании.

#### **Другие варианты осуществления**

Все признаки, описанные в настоящем описании, можно комбинировать в любой комбинации. Каждый признак, представленный в настоящем описании, можно заменять альтернативным признаком, служащим той же, эквивалентной или сходной цели. Таким образом, если явно не указано иное, каждый описанный признак является только примером из общих серий эквивалентных или сходных признаков.

Из приведенного выше описания, специалист в этой области легко может определять основные характеристики настоящего изобретения и, без отклонения от его сущности и объема, может осуществлять различные изменения и модификации изобретения для его адаптации к различным применениям и условиям. Таким образом, другие варианты осуществления также входят в объем формулы изобретения.

#### **Эквиваленты**

В то время как в настоящем описании описано и проиллюстрировано несколько вариантов осуществления изобретения, специалист в данной области легко может предусмотреть множество других средств и/или структур для осуществления функции, и/или получения результатов и/или одного или нескольких преимуществ, описанных в настоящем описании, и каждый из таких вариантов и/или модификаций считают входящим в объем вариантов осуществления настоящего изобретения, описанных в настоящем описании. В более общем смысле, специалисту в данной области хорошо понятно, что все параметры, измерения, материалы и конфигурации, описанные в настоящем описании, являются иллюстративными, и что точные параметры, измерения, материалы и/или конфигурации зависят от конкретного применения или применений, для которого/которых используют объяснения, описанные в настоящем описании. Специалисту в данной области понятно, или он может определять, с использованием не более, чем общепринятых экспериментов, множество эквивалентов конкретных вариантов осуществления изобретения, описанных в настоящем описании. Таким образом, следует понимать, что описанные выше варианты осуществления представлены только в качестве примеров, и что, в объеме пунктов прилагаемой формулы изобретения и их эквивалентов, варианты осуществления изобретения можно осуществлять на практике иным образом, чем конкретно описано и заявлено. Варианты осуществления настоящего изобретения относятся к каждому индивидуальному признаку, системе, изделию, материалу, набору и/или способу, описанным в настоящем описании. Кроме того, в объем настоящего изобретения включена любая комбинация двух или более таких признаков, систем, изделий, материалов, наборов и/или способов, если такие признаки, системы, изделия, материалы, наборы и/или способы не противоречат друг другу.

Следует понимать, что все определения, определенные и используемые в настоящем описании, имеют преимущество относительно определений, приведенных в словарях, определений в документах, включенных в качестве ссылки, и/или обычных значений определенных терминов.

В рамках изобретения, формы единственного числа, как использовано в описании и формуле изобретения, если явно не указано иное, следует понимать как означающие "по меньшей мере один".

В рамках изобретения, фразу "и/или", как использовано в описании и формуле изобретения, следует понимать как означающую "любой или оба" из элементов, соединенных таким образом, т.е., элементов, в некоторых случаях присутствующих совместно, а в других случаях - раздельно. Множество элементов, перечисленных с "и/или", следует понимать таким же образом, т.е., "один или несколько" элементов, соединенных таким образом. Необязательно, могут присутствовать другие элементы, отличные от элементов, конкретно указанных с условием "и/или", независимо от того, родственные они или не родственные конкретно определенным элементам. Таким образом, в качестве неограничивающего примера, ссылка на "А и/или В", при использовании в комбинации с неограниченными фразами, такими как "содержащий", может относиться, в одном варианте осуществления, только к А (необязательно, включая элементы, отличные от В); в другом варианте осуществления, только к В (необязательно, включая элементы, отличные от А); в другом варианте осуществления, к А и В (необязательно включая другие элементы); и т.д.

В рамках изобретения, фразу "или", как использовано в описании и формуле изобретения, следует понимать как имеющую такое же значение, как "и/или", как определено выше. Например, при разделении пунктов в списке, "или" или "и/или" следует интерпретировать как включительные, т.е., включающие по меньшей мере один, но также включающие более одного из ряда или списка элементов и, необязательно, дополнительные, не включенные в список пункты. Только термины, четко указывающие на иное, такие как "только один из" или "точно один из", или, при использовании в формуле изобретения, "состоящий из", относятся к включению точно одного элемента из ряда или списка элементов. В общем,



термин "или", в рамках изобретения, следует интерпретировать только как указывающий на исключительные альтернативы (т.е., "один или другой, но не оба"), когда ему предшествуют термины исключительности, такие как "любой", "один из", "только один из" или "точно один из". "По существу состоящий из", при использовании в формуле изобретения, должен иметь свое обычное значение, используемое в области патентного права.

В рамках изобретения, как использовано в описании и формуле изобретения, фразу "по меньшей мере один", по отношению к списку из одного или нескольких элементов, следует понимать как означающую по меньшей мере один элемент, выбранный из любого одного или нескольких элементов в списке элементов, но не обязательно, включая по меньшей мере один из всех без исключения элементов, конкретно перечисленных в списке элементов, и не исключая любые комбинации элементов из списка элементов. Это определение также позволяет то, что, необязательно, могут присутствовать элементы, отличные от элементов, конкретно определенных в списке элементов, к которому относится фраза "по меньшей мере один", независимо от того, родственные они или не родственные конкретно определенным элементам. Таким образом, в качестве неограничивающего примера, "по меньшей мере один из А и В" (или, эквивалентно, "по меньшей мере один из А или В", или, эквивалентно, "по меньшей мере один из А и/или В") может относиться, в одном варианте осуществления, по меньшей мере к одному, необязательно, включая более одного, А, в отсутствие В (и необязательно, включая элементы, отличные от В); в другом варианте осуществления, по меньшей мере к одному, необязательно, включая более одного, В, в отсутствие А (и необязательно, включая элементы, отличные от А); в другом варианте осуществления, по меньшей мере к одному, необязательно, включая более одного, А, и по меньшей мере к одному, необязательно, включая более одного, В (и необязательно, включая другие элементы); и т.д.

Следует понимать также, что, если явно не указано иное, в любых способах, заявленных в настоящем описании, включающих несколько стадий или действий, порядок стадий или действий способа не обязательно ограничен порядком, в котором стадии или действия способа указаны.

В формуле изобретения, а также в представленном выше описании, все переходные фразы, такие как "содержащий", "включающий", "несущий", "имеющий", "закрывающий", "задействующий", "вмещающий", "составленный из" и т.п., следует понимать как неограничивающие, т.е., означающие включая, но без ограничения. Только переходные фразы "состоящий из" и "по существу состоящий из" должны являться закрытыми или полузакрытыми переходными фразами, соответственно, как указано в United States Patent Office Manual of Patent Examining Procedures, Section 2111.03.

## СПИСОК ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ

<110> DYAX CORP.

<120> ИНГИБИТОРЫ КАЛЛИКРЕИНА ПЛАЗМЫ И ИХ ПРИМЕНЕНИЯ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ПРИСТУПА НАСЛЕДСТВЕННОГО АНГИОНЕВРОТИЧЕСКОГО ОТЕКА

<130> D0617.70128W000

<140> Еще не присвоен

<141> Одновременно с

<150> US 62/808612

<151> 2019-02-21

<150> US 62/725216

<151> 2018-08-30

<160> 10

<170> PatentIn версии 3.5

<210> 1

<211> 469

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический полипептид

<400> 1

## 048026

Met Gly Trp Ser Cys Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly Ala  
 1 5 10 15  
 His Ser Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro  
 20 25 30  
 Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser  
 35 40 45  
 His Tyr Ile Met Met Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu  
 50 55 60  
 Trp Val Ser Gly Ile Tyr Ser Ser Gly Gly Ile Thr Val Tyr Ala Asp  
 65 70 75 80  
 Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr  
 85 90 95  
 Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr  
 100 105 110  
 Tyr Cys Ala Tyr Arg Arg Ile Gly Val Pro Arg Arg Asp Glu Phe Asp  
 115 120 125  
 Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys  
 130 135 140  
 Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly  
 145 150 155 160  
 Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro  
 165 170 175  
 Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr  
 180 185 190  
 Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val  
 195 200 205  
 Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn  
 210 215 220  
 Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro  
 225 230 235 240

048026

Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu  
 245 250 255

Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp  
 260 265 270

Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp  
 275 280 285

Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly  
 290 295 300

Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn  
 305 310 315 320

Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp  
 325 330 335

Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro  
 340 345 350

Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu  
 355 360 365

Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn  
 370 375 380

Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile  
 385 390 395 400

Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr  
 405 410 415

Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys  
 420 425 430

Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys  
 435 440 445

Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu  
 450 455 460

Ser Leu Ser Pro Gly  
 465

<210> 2  
 <211> 231  
 <212> PRT  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетический полипептид

<400> 2

Met Gly Trp Ser Cys Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly Ala  
 1 5 10 15

His Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser  
 20 25 30

Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser  
 35 40 45

Ser Trp Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu  
 50 55 60

Leu Ile Tyr Lys Ala Ser Thr Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe  
 65 70 75 80

Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu  
 85 90 95

Gln Pro Asp Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Thr Tyr  
 100 105 110

Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala  
 115 120 125

Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser  
 130 135 140

Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu  
 145 150 155 160

Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser  
 165 170 175

Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu  
 180 185 190

Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val

## 048026

195 200 205  
 Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys  
 210 215 220

Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys  
 225 230

<210> 3  
 <211> 122  
 <212> PRT  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетический полипептид

<400> 3

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly  
 1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser His Tyr  
 20 25 30

Ile Met Met Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
 35 40 45

Ser Gly Ile Tyr Ser Ser Gly Gly Ile Thr Val Tyr Ala Asp Ser Val  
 50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr  
 65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
 85 90 95

Ala Tyr Arg Arg Ile Gly Val Pro Arg Arg Asp Glu Phe Asp Ile Trp  
 100 105 110

Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser  
 115 120

<210> 4  
 <211> 106  
 <212> PRT  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетический полипептид

&lt;400&gt; 4

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly  
 1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Trp  
 20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile  
 35 40 45

Tyr Lys Ala Ser Thr Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly  
 50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro  
 65 70 75 80

Asp Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Thr Tyr Trp Thr  
 85 90 95

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys  
 100 105

&lt;210&gt; 5

&lt;211&gt; 5

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Искусственная последовательность

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Синтетический полипептид

&lt;400&gt; 5

His Tyr Ile Met Met  
 1 5

&lt;210&gt; 6

&lt;211&gt; 17

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Искусственная последовательность

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Синтетический полипептид

&lt;400&gt; 6

Gly Ile Tyr Ser Ser Gly Gly Ile Thr Val Tyr Ala Asp Ser Val Lys  
 1 5 10 15

Gly

<210> 7  
 <211> 13  
 <212> PRT  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетический полипептид

<400> 7

Arg Arg Ile Gly Val Pro Arg Arg Asp Glu Phe Asp Ile  
 1 5 10

<210> 8  
 <211> 11  
 <212> PRT  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетический полипептид

<400> 8

Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Trp Leu Ala  
 1 5 10

<210> 9  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетический полипептид

<400> 9

Lys Ala Ser Thr Leu Glu Ser  
 1 5

<210> 10  
 <211> 8  
 <212> PRT  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетический полипептид

<400> 10

Gln Gln Tyr Asn Thr Tyr Trp Thr  
 1 5

## ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ лечения приступа наследственного ангионевротического отека (НАЕ) или уменьшения частоты приступов НАЕ, включающий:

введение нуждающемуся в этом субъекту-человеку антитела, содержащего определяющие комплементарность области (CDR) тяжелой цепи, указанные в SEQ ID NO: 5-7, и CDR легкой цепи, указанные в SEQ ID NO: 8-10, в течение первого периода лечения;

где, в первом периоде лечения, антитело вводят во множественных дозах субъекту-человеку при 300 мг каждые две недели; и

где субъект-человек имеет, как подозревают, имеет, или подвержен риску развития НАЕ и имел между 1 и 2, 2 и 3 или более 3 приступов НАЕ за четыре недели, предшествующие первой дозе из первого периода лечения.

2. Способ лечения приступа наследственного ангионевротического отека (НАЕ) или уменьшения частоты приступов НАЕ, включающий введение нуждающемуся в этом субъекту-человеку антитела, содержащего определяющие комплементарность области (CDR) тяжелой цепи, указанные в SEQ ID NO: 5-7, и CDR легкой цепи, указанные в SEQ ID NO: 8-10,

где субъект-человек является подростком в возрасте между 12 и 18 лет; и

где антитело вводят субъекту-человеку при 300 мг каждые две недели.

3. Способ лечения приступа наследственного ангионевротического отека (НАЕ) или уменьшения частоты приступов НАЕ, включающий введение нуждающемуся в этом субъекту-человеку антитела, содержащего определяющие комплементарность области (CDR) тяжелой цепи, указанные в SEQ ID NO: 5-7, и CDR легкой цепи, указанные в SEQ ID NO: 8-10,

где, в первом периоде лечения, антитело вводят во множественных дозах субъекту-человеку при 300 мг каждые две недели; и

испытал по меньшей мере один предшествующий приступ НАЕ гортани.

4. Способ по любому из пп.1-3, где антитело представляет собой полноразмерное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент.

5. Способ по любому из пп.1-4, где антитело содержит вариабельную область тяжелой цепи, указанную в SEQ ID NO: 3, и/или вариабельную область легкой цепи, указанную в SEQ ID NO: 4.

6. Способ по любому из пп.1-5, где антитело содержит тяжелую цепь, указанную аминокислотами 19-469 в SEQ ID NO: 1, которая имеет следующую последовательность:

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSS  
GGITVYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCA YRRIGVPRRDEFDIWG  
QGTMTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV  
HTFPAVLQSSGLYSLSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKTHTCP  
PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHN  
AKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR  
EPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGS  
FFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

и легкую цепь, указанную аминокислотами 19-231 в SEQ ID NO: 2, которая имеет следующую последовательность:

DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCRASQSISSWLAWYQQKPGKAPKLLIYKASTLES  
GVPSRFSGSGSGTEFTLTISLQPDDFATYYCQYNTYWTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIF  
PPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYSLSS  
TLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC.

7. Способ по любому из пп.1-6, где антитело составляют в фармацевтическую композицию, содержащую фармацевтически приемлемый носитель.

8. Способ по п.7, где фармацевтическая композиция содержит фосфат натрия, лимонную кислоту, гистидин, хлорид натрия и полисорбат 80.

9. Способ по п.8, где фосфат натрия присутствует в концентрации 30 мМ, лимонная кислота присутствует в концентрации 19 мМ, гистидин присутствует в концентрации 50 мМ, хлорид натрия присутствует в концентрации 90 мМ и полисорбат 80 присутствует при 0,01%.

10. Способ по любому из пп.1-9, где антитело вводят подкожно.

11. Способ по любому из пп.1-10, где субъект-человек имеет НАЕ типа I или типа II.

12. Способ по любому из пп.1-11, где субъект-человек испытал по меньшей мере два приступа НАЕ за год, предшествующий первому периоду лечения.

13. Способ по любому из пп.1-12, где субъекта-человека подвергали одному или нескольким предшествующим видам лечения НАЕ, предшествующим первому периоду лечения.

14. Способ по п.13, где предшествующее лечение НАЕ включает ингибитор C1, ингибитор калликрина плазмы, антагонист рецептора брадикинина, андроген, противифибринолитическое средство или



их комбинацию.

15. Способ по п.14, где предшествующее лечение НАЕ включает С1-INH, экалангид, икатибант, даназол, транексамовую кислоту или их комбинацию.

16. Способ по любому из пп.13-15, включающий период снижения дозирования для одного или нескольких предшествующих видов лечения НАЕ.

17. Способ по п.16, где период снижения дозирования составляет 2-4 недели.

18. Способ по любому из пп.13-17, где один или несколько предшествующих видов лечения НАЕ прекращают либо до первой дозы антитела, либо в пределах трех недель после первой дозы антитела.

19. Способ по любому из пп.1-12, где субъект-человек является свободным от предшествующего лечения НАЕ.

20. Способ по п.19, где субъект-человек является свободным от предшествующего лечения НАЕ по меньшей мере две недели до первой дозы антитела.

21. Способ по любому из пп.1-20, где субъект-человек имел по меньшей мере один приступ НАЕ за четыре недели, предшествующие первой дозе из первого периода лечения, или по меньшей мере два приступа НАЕ за восемь недель, предшествующих первой дозе из первого периода лечения.

22. Способ по любому из пп.1-21, где способ дополнительно включает введение субъекту антитела в течение второго периода лечения после первого периода лечения.

23. Способ по п.22, где первую дозу из второго периода лечения вводят через две недели после последней дозы из первого периода лечения.

24. Способ по п.22 или 23, где второй период лечения включает одну или несколько доз антитела при 300 мг.

25. Способ по п.24, где второй период лечения включает множественные дозы антитела при 300 мг каждые две недели.

26. Способ по любому из пп.1-25, где субъект-человек является свободным от длительной профилактики НАЕ или лечения НАЕ, включающего ингибитор ангиотензинпревращающего фермента (АСЕ), содержащего эстроген лекарственного средства или андрогена, предшествующих первому периоду лечения, во время первого периода лечения и/или во время второго периода лечения.

27. Способ по любому из пп.1-26, дополнительно включающий:

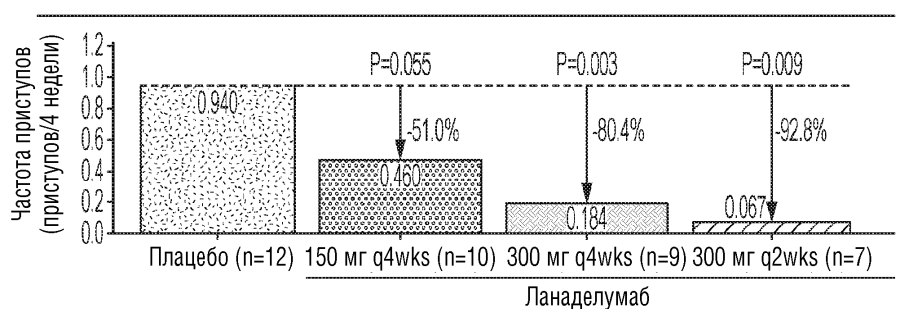
(а) введение нуждающемуся в этом субъекту-человеку антитела в однократной дозе 300 мг после первого периода лечения; и

(б) дополнительное введение субъекту антитела в одной или нескольких дозах 300 мг, если субъект испытывает приступ НАЕ после (а).

28. Способ по п.27, где на стадии (б), субъекту вводят антитело в множественных дозах при 300 мг каждые две недели.

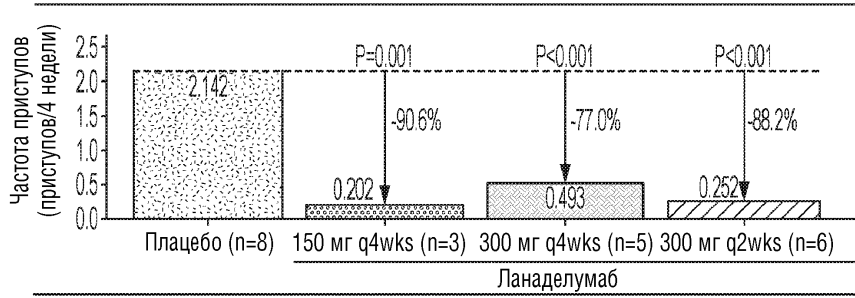
29. Способ по п.28, где первую дозу из стадии (б) вводят в пределах одной недели после приступа НАЕ.

30. Способ по любому из пп.27-29, где однократная доза из (а) и первая доза из (б) отделены по меньшей мере 10 сутками.

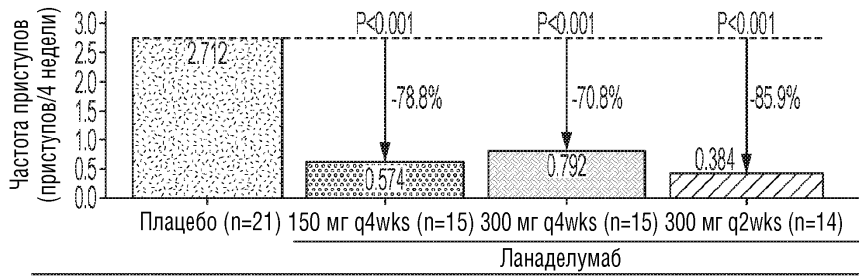


НАЕ=наследственный ангионевротический отек; q2wks=каждые 2 недели; q4wks=каждые 4 недели

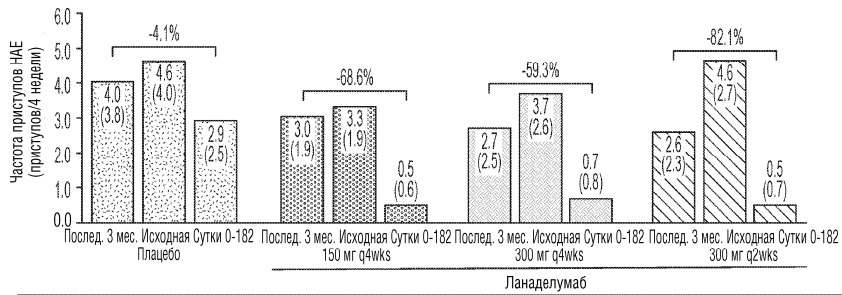
Фиг. 1А



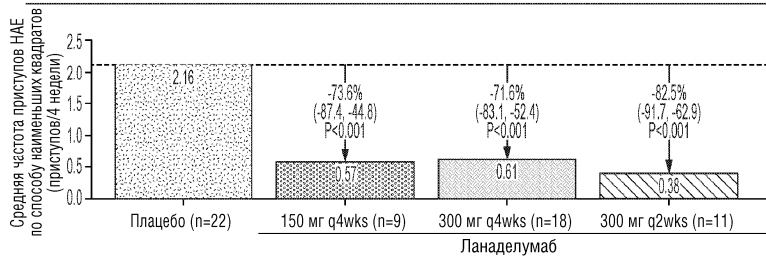
НАЕ=наследственный ангионевротический отек; q2wks=каждые 2 недели; q4wks=каждые 4 недели  
Фиг. 1В



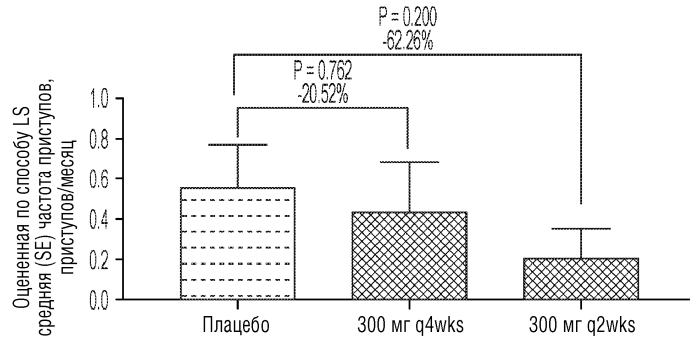
НАЕ=наследственный ангионевротический отек; q2wks=каждые 2 недели; q4wks=каждые 4 недели  
Фиг. 1С



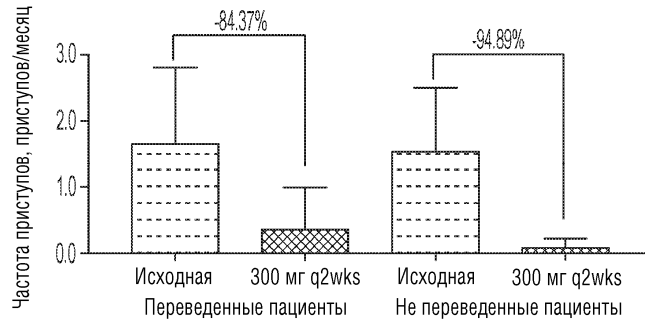
С1-ИНН=ингибитор С1; НАЕ=наследственный ангионевротический отек; LTP - длительная профилактика; q2wks=каждые 2 недели; q4wks=каждые 4 недели. Процент над столбцами показывает различие частоты приступов во время лечения, по сравнению с ретроспективной частотой приступов  
Фиг. 2А



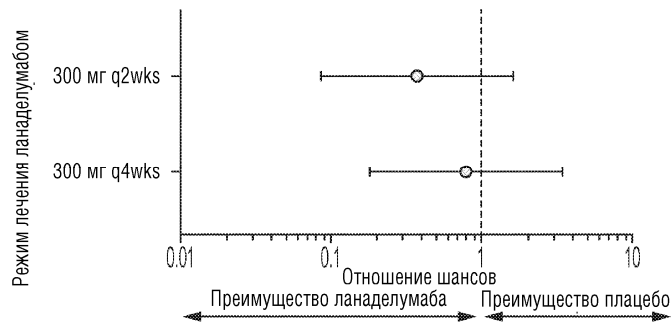
С1-ИНН=ингибитор С1; НАЕ=наследственный ангионевротический отек; LTP - длительная профилактика; q2wks=каждые 2 недели; q4wks=каждые 4 недели. Проценты представляют собой уменьшение частоты приступов, по сравнению с плацебо.  
Фиг. 2В



Фиг. 3А

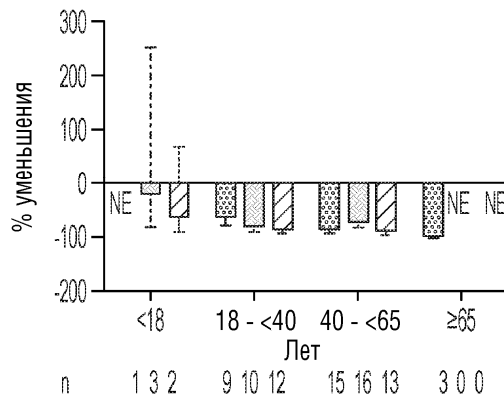


Фиг. 3В

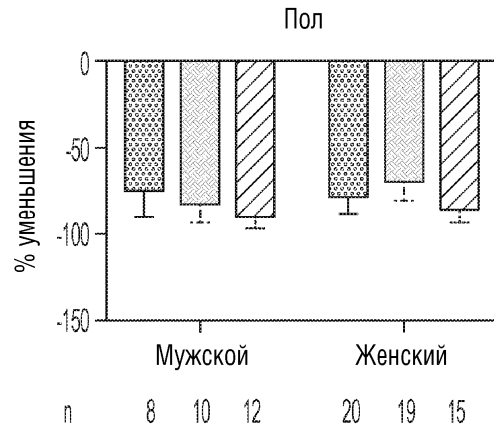


Фиг. 3С

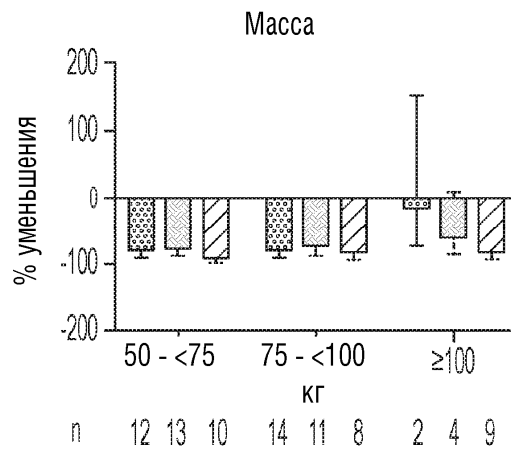
Возраст



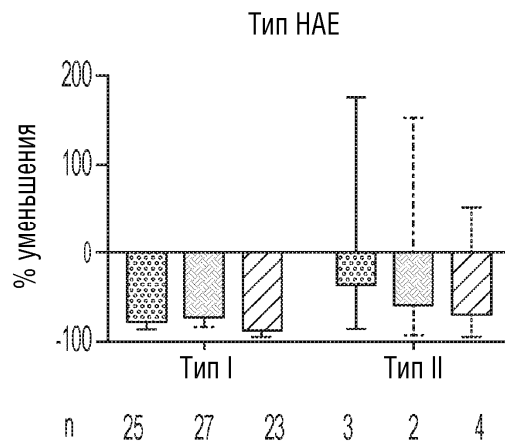
Фиг. 4А



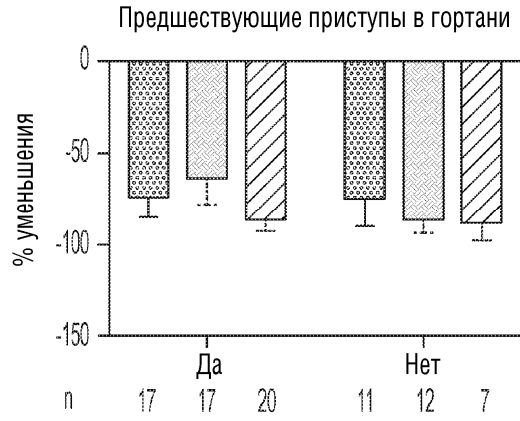
Фиг. 4B



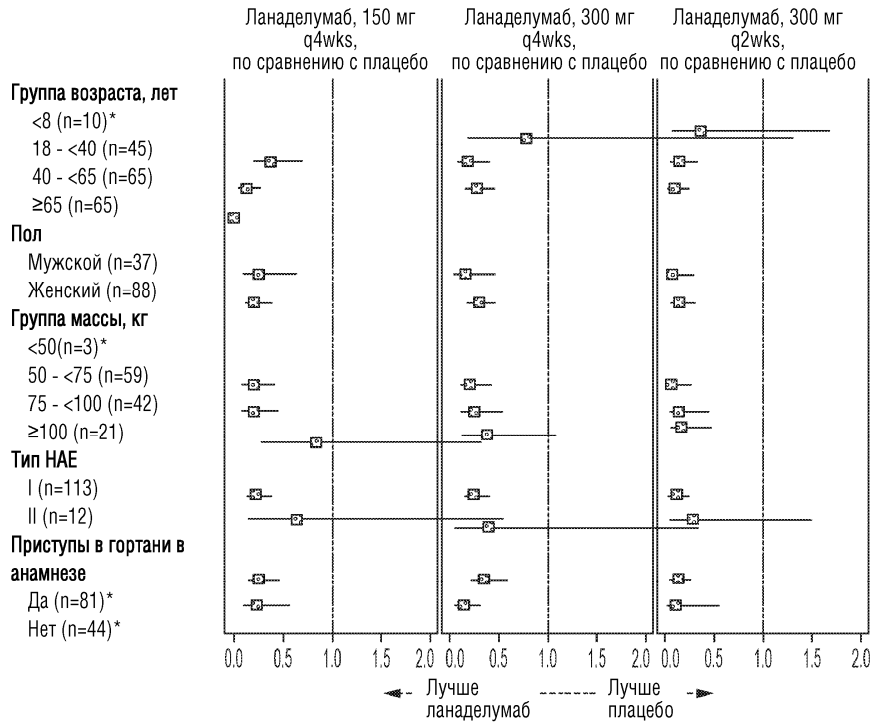
Фиг. 4C



Фиг. 4D



Фиг. 4Е



Фиг. 5

