

(19) C2 (11) 129038 (13) UA

(98) а/с 93, м. Київ, 01135

(85) 2022-05-27

(74) Кістерський Тимофій Арсенійович, (UA)

(45) [2024-12-25]

(43) [2022-10-12]

(24) 2024-12-26

(22) 2020-10-27

(12) Патент України (на 20 р.)

(21) а202201316

(46) 2024-12-25

(86) PCT/EP2020/080201 2020-10-27

(30) 62/926,833 2019-10-28 US

(54) СУХИЙ ПОРОШКОПОДІБНИЙ СКЛАД АНТИТІЛА, ЩО ЗВ'ЯЗУЄ ТИМІЧНИЙ СТРОМАЛЬНИЙ ЛІМФОПОЕТИН (TSLP) DRY POWDER FORMULATIONS OF THYMIC STROMAL LYMPHOPOIETIN (TSLP)-BINDING ANTIBODIES AND METHODS OF USE THE REOF

(56) WO 2009/035577 A1, 19.03.2009 2 WO 2001/32144 A1, 10.05.2001 2 US 2018/327489 A1, 15.11.2018 2 WO 2017/042696 A1, 16.03.2017 2 WO 2016/142426 A1, 15.09.2016 2

(71) МЕДИММУНЕ ЛІМІТЕД GB МЕДИММУНЕ ЛІМІТЕД GB MEDIMMUNE LIMITED GB

(72) Хантінгтон Кетрін Ежені Чайлан GB Хантінгтон Кетрін Ежені Чайлан GB Huntington, Catherine, Eugenie, Chaillan GB Хоу Сьюзан US Хоу Сьюзан US Ное, Susan US Маніквар Пракаш US Маниквар Пракаш US Manikwar, Prakash US Колбек Роланд Вільгельм US Колбек Роланд Вильгельм US Kolbeck, Roland, Wilhelm US Коен Емма Сюзанн GB Коен Емма Сюзанн GB Cohen, Emma, Suzanne GB Газвіні Саба US Газвіні Саба US Ghazvini, Saba US Лечуга-Баллестерос Давід US Лечуга-Баллестерос Давід US Lechuga-Ballesteros, David US Хансен Келліса Бет US Хансен Келліса Бет US Hansen, Kellisa, Beth US Д'Са Декстер Джозеф US Д'Са Декстер Джозеф US D'Sa, Dexter, Joseph US

(73) МЕДИММУНЕ ЛІМІТЕД GB МЕДИММУНЕ ЛІМІТЕД GB MEDIMMUNE LIMITED GB

The present technology relates generally to dry powder formulations of antibodies specific for thymic stromal lymphopoietin (TSLP), as well as methods of treating asthma, using the dry powder formulations, suitably via pulmonary delivery.

Винахід стосується сухого порошкоподібного складу антитіла, специфічного до тимусного стромального лімфопоетину (TSLP).

1. Сухий порошкоподібний склад, що містить множину мікрочастинок, при цьому мікрочастинки містять:

а) від 8 до 11 % лейцину за вагою;

б) від 2 до 4 % трилейцину за вагою; й

с) антигензв'язуючий фрагмент антитіла до тимічного стромального лімфопоетину (TSLP), що містить:

варіабельний домен важкого ланцюга, що містить:

i) послідовність CDR1 важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність, представлену у SEQ ID NO: 1;

ii) послідовність CDR2 важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність, представлену у SEQ ID NO: 2; і

iii) послідовність CDR3 важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність, представлену у SEQ ID NO: 3, і

варіабельний домен легкого ланцюга, що містить:

i) послідовність CDR1 легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність, представлену у SEQ ID NO: 5;

ii) послідовність CDR2 легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність, представлену у SEQ ID NO: 6; і

iii) послідовність CDR3 легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність, представлену у SEQ ID NO: 7;

при цьому лейцин і трилейцин присутні у співвідношенні концентрацій лейцин:трилейцин, що становить від 1:1 до 12:1.

2. Сухий порошкоподібний склад за п. 1, який **відрізняється** тим, що зазначений сухий порошкоподібний склад характеризується щільністю спресованої нерозфасованої речовини, що становить 0,4-1,0 г/см³.

3. Сухий порошкоподібний склад за будь-яким із попередніх пунктів, який додатково містить засіб для стабілізації скла.

4. Сухий порошкоподібний склад за п. 3, який **відрізняється** тим, що зазначений засіб для стабілізації скла являє собою аморфний сахарид або буфер.

5. Сухий порошкоподібний склад за п. 3, який **відрізняється** тим, що зазначений засіб для стабілізації скла містить аморфний сахарид і буфер.

6. Сухий порошкоподібний склад за п. 4 або 5, який **відрізняється** тим, що зазначений аморфний сахарид вибраний з групи, що складається з трегалози, сахарози, рафінози, інуліну, декстрану, маніту та циклодекстрину.

7. Сухий порошкоподібний склад за будь-яким із пп. 4-6, який **відрізняється** тим, що зазначений буфер вибраний з групи, що складається з цитратного буфера, фосфатного буфера, гістидинового буфера, гліцинового буфера, ацетатного буфера та тартратного буфера.

8. Сухий порошкоподібний склад за будь-яким із пп. 4-7, який **відрізняється** тим, що зазначений аморфний сахарид являє собою трегалозу.

9. Сухий порошкоподібний склад за будь-яким із пп. 1-8, який **відрізняється** тим, що зазначене співвідношення концентрацій лейцин:трилейцин становить 5,25:1.

10. Сухий порошкоподібний склад за будь-яким із пп. 1-9, який містить 10,5 % лейцину за вагою та 2 % трилейцину за вагою.

11. Сухий порошкоподібний склад за будь-яким із пп. 1-10, який додатково містить поверхнево-активну речовину, при цьому поверхнево-активну речовину необов'язково вибирають з полісорбату-20 (PS-20), полісорбату-40 (PS-40), полісорбату-60 (PS-60), полісорбату-80 (PS-80) і полуксамеру-188.

12. Сухий порошкоподібний склад за п. 11, який **відрізняється** тим, що зазначена поверхнево-активна речовина являє собою PS-80, при цьому необов'язково PS-80 присутній в концентрації у діапазоні від 0,27 до 2,7 % за вагою, необов'язково від 0,67 до 1,33 % за вагою.

13. Сухий порошкоподібний склад за п. 12, який **відрізняється** тим, що зазначений PS-80 присутній в концентрації 1,1 % за вагою.

14. Сухий порошкоподібний склад, що містить множину мікрочастинок, при цьому мікрочастинки містять:

a) 10,5 % лейцину за вагою;

b) 2 % трилейцину за вагою;

c) від 1 до 40 % за вагою антигензв'язуючого фрагмента антитіла до тимічного стромального лімфопоетину (TSLP), що містить:

варіабельний домен важкого ланцюга, що містить:

i) послідовність CDR1 важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність, представлену у SEQ ID NO: 1;

ii) послідовність CDR2 важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність, представлену у SEQ ID NO: 2; і

iii) послідовність CDR3 важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність, представлену у SEQ ID NO: 3; і

варіабельний домен легкого ланцюга, що містить:

- i) послідовність CDR1 легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність, представлену у SEQ ID NO: 5;
- ii) послідовність CDR2 легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність, представлену у SEQ ID NO: 6; i
- iii) послідовність CDR3 легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність, представлену у SEQ ID NO: 7;
- d) 1,1 % за вагою полісорбату-80;
- e) буфер; i
- f) трегалозу в кількості за вагою для отримання 100 %.

15. Сухий порошкоподібний склад за п. 1, який **відрізняється** тим, що зазначений антигензв'язуючий фрагмент містить:

- a) варіабельний домен важкого ланцюга, що містить SEQ ID NO: 4; i
- b) варіабельний домен легкого ланцюга, що містить SEQ ID NO: 8.

16. Сухий порошкоподібний склад за п. 15, який **відрізняється** тим, що зазначений антигензв'язуючий фрагмент містить важкий ланцюг, що містить послідовність, представлену у SEQ ID NO: 28, i легкий ланцюг, що містить послідовність, представлену у SEQ ID NO: 29.

17. Сухий порошкоподібний склад за будь-яким із попередніх пунктів, який **відрізняється** тим, що зазначений антигензв'язуючий фрагмент вибраний з Fab, Fab', F(ab')₂, scFv, мінітіла або діатіла.

18. Сухий порошкоподібний склад за п. 17, який **відрізняється** тим, що зазначений антигензв'язуючий фрагмент являє собою Fab.

19. Сухий порошкоподібний склад за п. 18, який **відрізняється** тим, що зазначений Fab є людським або гуманізованим.

20. Сухий порошкоподібний склад за будь-яким із попередніх пунктів, який **відрізняється** тим, що зазначене антитіло до TSLP, з якого отриманий антигензв'язуючий фрагмент, являє собою IgG1.

21. Сухий порошкоподібний склад за будь-яким із пп. 1-20 для застосування у способі лікування.

22. Сухий порошкоподібний склад для застосування за п. 21 у способі лікування астми.

23. Сухий порошкоподібний склад для застосування за п. 22, який **відрізняється** тим, що зазначена астма являє собою астму легкого ступеня тяжкості, астму помірного ступеня тяжкості, астму тяжкого ступеня тяжкості, еозинофільну форму астми або нееозинофільну форму астми, або низьку еозинофільну форму астми.

24. Сухий порошкоподібний склад для застосування за п. 22, який **відрізняється** тим, що зазначена астма характеризується менше ніж трьома з наступного:
- симптоми астми у денний час - більше двох разів на тиждень;
 - нічні пробудження у зв'язку з астмою;
 - застосування засобу для полегшення астми - понад два рази на тиждень; й
 - обмеження активності у зв'язку з астмою.
25. Сухий порошкоподібний склад для застосування за будь-яким із пп. 21-24, який **відрізняється** тим, що зазначений склад підлягає введенню за допомогою інгаляції.
26. Сухий порошкоподібний склад за п. 14, який **відрізняється** тим, що антигензв'язуючий фрагмент містить:
- а) варіабельний домен важкого ланцюга, що містить SEQ ID NO: 4; і
 - б) варіабельний домен легкого ланцюга, що містить SEQ ID NO: 8.
27. Сухий порошкоподібний склад за п. 26, який **відрізняється** тим, що антигензв'язуючий фрагмент містить важкий ланцюг, що містить послідовність, представлену у SEQ ID NO: 28, і легкий ланцюг, що містить послідовність, представлену у SEQ ID NO: 29.
28. Сухий порошкоподібний склад за будь-яким із пп. 14, 26 або 27, який **відрізняється** тим, що зазначений антигензв'язуючий фрагмент вибраний з Fab, Fab', F(ab')₂, scFv, мінітіла або діатіла.
29. Сухий порошкоподібний склад за п. 28, який **відрізняється** тим, що зазначений антигензв'язуючий фрагмент являє собою Fab.
30. Сухий порошкоподібний склад за п. 29, який **відрізняється** тим, що зазначений Fab є людським або гуманізованим.
31. Сухий порошкоподібний склад за будь-яким із пп. 14 або 26-30, який **відрізняється** тим, що зазначене антитіло до TSLP, з якого отриманий антигензв'язуючий фрагмент, являє собою IgG1.
32. Сухий порошкоподібний склад за будь-яким із пп. 14 або 26-31 для застосування у способі лікування.
33. Сухий порошкоподібний склад за п. 32 для застосування у способі лікування астми.
34. Сухий порошкоподібний склад для застосування за п. 33, який **відрізняється** тим, що зазначена астма являє собою астму легкого ступеня тяжкості, астму помірного ступеня тяжкості, астму важкого ступеня тяжкості, еозинофільну форму астми або нееозинофільну форму астми, або низьку еозинофільну форму астми.
35. Сухий порошкоподібний склад для застосування за п. 33, який **відрізняється** тим, що астма характеризується менше ніж трьома з наступного:

симптоми астми у денний час - більше двох разів на тиждень;
нічні пробудження у зв'язку з астмою;
застосування засобу для полегшення астми - понад два рази на тиждень; й
обмеження активності у зв'язку з астмою.

36. Сухий порошкоподібний склад для застосування за будь-яким із пп. 32-35, який **відрізняється** тим, що зазначений склад підлягає введенню за допомогою інгаляції.

37. Антигензв'язуючий фрагмент антитіла до TSLP, який містить важкий ланцюг, що містить послідовність, представлену у SEQ ID NO: 28; і легкий ланцюг, що містить послідовність, представлену у SEQ ID NO: 29, при цьому антигензв'язуючий фрагмент являє собою Fab, отриманий з IgG1.

Спосіб за даним винаходом у цілому відноситься до сухих порошкоподібних складів антигензв'язуючих фрагментів, отриманих із антитіл, специфічних до тимічного стромального лімфопоетину (TSLP), а також до способів лікування бронхіальної астми, у тому числі бронхіальної астми легкого, помірного та важкого ступеня тяжкості, бронхіальної астми та неоеозинофільної форми бронхіальної астми/низькоеозинофільної форми бронхіальної астми із застосуванням сухих порошкоподібних складів за допомогою доставки у легені. Сухі порошкоподібні склади містять суміш лейцину та трилейцину, в результаті чого утворюється склад, зокрема, придатний для доставки антигензв'язуючих фрагментів, отриманих із антитіл до TSLP, за допомогою інгаляції.

РІВЕНЬ ТЕХНІКИ

За оцінками, бронхіальна астма вражає 300 мільйонів людей у всьому світі, включаючи всі вікові групи, та створює серйозний тягар для системи охорони здоров'я та суспільства через втрату продуктивності на робочому місці та порушення сімейного життя. ("Pocket Guide for Asthma Management and Prevention," Global Initiative for Asthma; 2019). Бронхіальна астма викликає симптоми, такі як свистяче дихання, задишка, стиснення в грудях та кашель, які згодом варіюють залежно від їх виникнення, частоти та інтенсивності. Симптоми часто асоційовані із бронхоконстрикцією, потовщенням стінок дихальних шляхів та підвищеним виділенням слизу. Бронхіальна астма може характеризуватися різними ступенями прояву симптомів та бути добре контрольованою або слабко контрольованою залежно від кількості нападів та тяжкості.

Тимічний стромальний лімфопоетин (TSLP), цитокін епітеліальних клітин, що продукується у відповідь на середовищні та прозапальні подразники, призводить до активації численних запальних клітин та нижчерозташованих шляхів. Рівень TSLP є підвищеним у дихальних шляхах пацієнтів із бронхіальною астмою та корелює з експресією цитокінів Th2 та хемокінів та тяжкістю захворювання. Хоча TSLP займає центральне місце у регуляції імунітету у зв'язку з Th2, він також може відігравати ключову роль в інших шляхах запалення і, таким чином, мати відношення до численних фенотипів бронхіальної астми.

Доставка антитіл до TSLP пацієнту, зокрема, за допомогою інгаляції, могла б забезпечити покращений спосіб лікування пацієнтів, які страждають на бронхіальну астму, у тому числі пацієнтів, які страждають на бронхіальну астму легкого ступеня тяжкості, яким може знадобитися щоденне введення низьких доз.

КОРОТКИЙ ОПИС СУТІ ВИНАХОДУ

З урахуванням викладеного вище, в одному з аспектів у даному документі представлений сухий порошкоподібний склад, що містить безліч мікрочастинок, при цьому мікрочастинки містять: лейцин, від близько 1 % до близько 10 % трилейцину за вагою та антигензв'язуючий фрагмент антитіла до тимічного стромального лімфопоетину (TSLP).

У деяких варіантах здійснення, антигензв'язуючий фрагмент антитіла до тимічного стромального лімфопоетину (TSLP) містить варіабельний домен важкого ланцюга, що містить: послідовність CDR1 важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність, представлену у SEQ ID NO: 1, послідовність CDR2 важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність, представлену у SEQ ID NO: 2, та послідовність CDR3 важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність, представлену у SEQ ID NO: 3, при цьому будь-яка CDR1, 2 або 3 важкого ланцюга необов'язково містить одну амінокислотну заміну, та варіабельний домен легкого ланцюга містить послідовність CDR1 легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність, представлену у SEQ ID NO: 5, послідовність CDR2 легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність, представлену у SEQ ID NO: 6, та послідовність CDR3 легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність, представлену у SEQ ID NO: 7, при цьому будь-яка CDR1, 2 або 3 легкого ланцюга необов'язково містить одну амінокислотну заміну, при цьому лейцин та трилейцин присутні у співвідношенні концентрацій лейцин:трилейцин, що становить від близько 0,1:1 до близько 30:1. В іншому аспекті у даному документі представлений спосіб лікування бронхіальної астми у пацієнта, що включає введення шляхом інгаляції сухого порошкоподібного складу за першим аспектом. В іншому аспекті у даному документі представлений сухий порошкоподібний склад відповідно до першого аспекту для застосування у способі лікування, при цьому склад слід вводити за допомогою інгаляції. У деяких варіантах здійснення склад призначений для застосування у лікуванні бронхіальної астми.

КОРОТКИЙ ОПИС КРЕСЛЕНЬ

Викладені вище та інші характеристики та аспекти способу за даним винаходом можуть бути зрозумілі із наступного опису варіантів здійснення та проілюстровані у графічних матеріалах, що додаються. Додані графічні матеріали, які включені у даний документ та утворюють частину даного опису, служать додатково для ілюстрації принципів способу за даним винаходом. Графічні матеріали не обов'язково наведені у масштабі.

На Фіг. 1 зображено зв'язування Fab₁ з TSLP людини, виміряне за допомогою KinExA.

На Фіг. 2 зображено зв'язування Fab₁ з TSLP яванського макака, виміряне з використанням KinExA.

На Фіг. 3 зображено конкурентне зв'язування Fab₁ з TSLP людини як показник з використанням аналізу HTRF.

На Фіг. 4 зображено, що Fab₁ пригнічує вивільнення CCL17 з PBMC, що зазнали впливу TSLP.

На Фіг. 5 зображено, що Fab₁, Fab₂ та Fab₃ пригнічують індуковане TSLP вивільнення CCL17 з PBMC.

На Фіг. 6A-6C зображені РК профілі Fab₁ у сироватці крові, BAL та ELF після інгаляції з одноразовим підвищенням дози (група 1 та 2) та повторним підвищенням дози (група 3).

На Фіг. 7 зображені мікрочастинки із сухого порошкоподібного складу відповідно до варіантів здійснення даного документа.

На Фіг. 8A зображені результати щільності спресованої нерозфасованої речовини залежно від вмісту лейцину та трилейцину у сухих порошкоподібних складах.

На Фіг. 8B зображено заповнення капсул сухими порошкоподібними складами, описаними у даному документі.

На Фіг. 9 зображені результати вимірювання питомої площі поверхні із використанням BET, м²/г, для мікрочастинок сухих порошкоподібних складів відповідно до варіантів здійснення даного документа.

На Фіг. 10 зображена непряма кореляція вмісту води залежно від концентрації лейцину.

На Фіг. 11A-11D зображена шорсткість поверхні мікрочастинок, як виявлено із використанням SEM.

На Фіг. 12 зображена кореляція між медіанним масовим аеродинамічним діаметром (MMAD) та значеннями ваг. % лейцину та трилейцину.

На Фіг. 13 зображена кореляція між відкладенням на пристрої та значеннями ваг. % лейцину та трилейцину.

На Фіг. 14 зображена кореляція між фракцією дрібнодисперсних частинок (FPF) та значеннями ваг. % лейцину та трилейцину.

На Фіг. 15A зображено кількість невидимих неозброєним оком частинок після розведення складу, що містить 40 % (ваг./ваг.) Fab₁ та різні концентрації полісорбату-80 (PS-80) до концентрації розчину Fab₁, що становить 30 мг/мл (на фігурі "≥" означає верхню межу розміру, що становить 200 мкм).

На Фіг. 15B зображено кількість невидимих неозброєним оком частинок після розведення складу, що містить 40 % (ваг./ваг.) Fab₁ та різні концентрації PS-80 до концентрації розчину Fab₁, що становить 2,5 мг/мл (на фігурі "≥" означає верхню межу розміру, що становить 200 мкм).

На Фіг. 16A зображено кількість невидимих неозброєним оком частинок після розведення складу, що містить 40 % (ваг./ваг.) Fab₁ та різні концентрації полксамеру-188 до концентрації розчину Fab₁, що становить 30 мг/мл (на фігурі "≥" означає верхню межу розміру, що становить 200 мкм).

На Фіг. 16B зображено кількість невидимих неозброєним оком частинок після розведення складу, що містить 40 % (ваг./ваг.) Fab₁ та різні концентрації полксамеру-188 до концентрації розчину Fab₁, що становить 2,5 мг/мл (на фігурі "≥" означає верхню межу розміру, що становить 200 мкм).

На Фіг. 17A зображено % вмісту води складу, що містить 40 % (ваг./ваг.) Fab₁ та 1,1 % PS-80 після зберігання протягом 1 або 3 місяців при 40 °C та відносній вологості 75 % (40/75) та протягом 3 місяців при температурі 25 °C та відносній вологості 60 % (25/60).

На Фіг. 17B зображено розподіл розміру частинок (PSD) складу, що містить 40 % (ваг./ваг.) Fab₁ та 1,1 % PS-80 після зберігання протягом 1 або 3 місяців при 40 °C та відносній вологості 75 % (40/75) та протягом 3 місяців при температурі 25 °C та відносній вологості 60 % (25/60).

На Фіг. 17C зображена морфологія частинок складу, що містить 40 % (ваг./ваг.) Fab₁ та 1,1 % PS-80 після зберігання протягом 1 або 3 місяців при 40 °C та відносній вологості 75 % (40/75) та протягом 3 місяців при температурі 25 °C та відносній вологості 60 % (25/60).

На Фіг. 18A зображено % вмісту води складу, що містить 1 % (ваг./ваг.) Fab₁ та 1,1 % PS-80 після зберігання протягом 1 або 3 місяців при 40 °C та відносній вологості 75 % (40/75) та протягом 3 місяців при температурі 25 °C та відносній вологості 60 % (25/60).

На Фіг. 18B зображено розподіл розміру частинок (PSD) складу, що містить 1 % (ваг./ваг.) Fab₁ та 1,1 % PS-80 після зберігання протягом 1 або 3 місяців при 40 °C та відносній вологості 75 % (40/75) та протягом 3 місяців при температурі 25 °C та відносній вологості 60 % (25/60).

На Фіг. 18C зображена морфологія частинок складу, що містить 1 % (ваг./ваг.) Fab₁ та 1,1 % PS-80 після зберігання протягом 1 або 3 місяців при 40 °C та відносній вологості 75 % (40/75) та протягом 3 місяців при температурі 25 °C та відносній вологості 60 % (25/60).

На Фіг. 19A зображено кількість невидимих неозброєним оком частинок після розведення складу, що містить 40 % Fab₁ та 1,1 % PS-80 (ваг./ваг.) до концентрації розчину Fab₁, що становить 30 мг/мл, після зберігання в умовах 40/75 протягом 1 або 3 місяці та в умовах 25/60 протягом 3 місяців.

На Фіг. 19B зображено кількість невидимих неозброєним оком частинок після розведення складу, що містить 1 % Fab₁ та 1,1 % PS-80 (ваг./ваг.) до концентрації розчину Fab₁, що становить 0,75 мг/мл, після зберігання в умовах 40/75 протягом 1 або 3 місяці та в умовах 25/60 протягом 3 місяців.

ДЕТАЛЬНИЙ ОПИС СУТІ ВІНАХОДУ

Сухий порошковий склад, описаний у даному документі, задовольняє незадоволену потребу внаслідок забезпечення застосування зв'язуючих фрагментів антитіла до TSLP для лікування бронхіальної астми у первинній системі охорони здоров'я. Суб'єкти, що страждають на бронхіальну

астму, зазвичай контролюють симптоми бронхіальної астми за допомогою фармацевтичних композицій, що доставляються самостійно, таких як бета-агоністи та/або глюкокортикоїди тривалої дії, за допомогою інгаляції.

У той час як існуючі біологічні лікарські препарати, або схвалені, або такі, що проходять клінічні випробування, пропонують нову парадигму лікування пацієнтів, які страждають на бронхіальну астму, вони, як правило, не можуть бути доставлені суб'єктам за допомогою звичного легеневого шляху. Тезепелумаб, біологічний лікарський препарат нового покоління, являє собою моноклональне антитіло (mAb) на основі імуноглобуліну G₂ (IgG₂) людини, яке зв'язується із TSLP, попереджаючи його взаємодію із рецепторним комплексом TSLP. У недавньому рандомізованому подвійному сліпому плацебо контрольованому дослідженні фази 2 у суб'єктів, що страждають на бронхіальну астму, які отримували підшкірні ін'єкції тезепелумабу, частота клінічно значущих загострень бронхіальної астми була нижчою, ніж у суб'єктів, які отримували плацебо (Corren et al (2017) NEJM 377:936-946).

Даний винахід, описаний у даному документі, поєднує у собі терапевтичні переваги біологічних лікарських препаратів наступного покоління, таких як тезепелумаб, із більш звичним для суб'єктів, що страждають на бронхіальну астму, способом введення. Таким чином, даний винахід дозволяє застосовувати такі терапевтичні засоби наступного покоління первинної системи охорони здоров'я, за рахунок чого розширюється доступність цих лікарських препаратів для суб'єктів за межі досяжності спеціалізованої допомоги.

Крім того, склади, описані у даному документі, можуть бути особливо застосовні для лікування пацієнтів, які страждають на бронхіальну астму менш важкого ступеня тяжкості, яких зазвичай лікують у первинній системі охорони здоров'я. Наприклад, пацієнти із показником за шкалою Глобальної ініціативи з бронхіальної астми (GINA), що становить 3 або менше, прийнятніше із показником за шкалою GINA, що становить 2 або 3, можуть особливо піддаватися лікуванню за допомогою складу, описаного у даному документі. У певних варіантах здійснення пацієнти із показником за шкалою GINA, що становить 3, піддаються лікуванню за допомогою складу, описаного у даному документі. У певних варіантах здійснення пацієнти із показником за шкалою GINA, що становить 2, піддаються лікуванню за допомогою складу, описаного у даному документі. Крім того, за рахунок доставки біологічних лікарських препаратів безпосередньо у легені знижуються побічні ефекти, асоційовані із системним введенням (наприклад, запалення у місці ін'єкції).

Крім того, склади забезпечують можливість лікування пацієнтів, які страждають на бронхіальну астму помірного або важкого ступеня тяжкості, яких можна лікувати у первинній системі охорони здоров'я, або для лікування пацієнтів, які страждають на бронхіальну астму помірного та важкого ступеня тяжкості з обмеженим доступом до лікування за допомогою спеціалізованої допомоги. Наприклад, склади можуть бути застосовні для лікування пацієнтів із бронхіальною астмою помірного або важкого ступеня тяжкості із показником за шкалою Глобальної ініціативи з бронхіальної астми (GINA), що становить 4-5. Відповідно, склади забезпечують можливість лікування бронхіальної астми помірного та важкого ступеня тяжкості, яка є неконтрольованою. Відповідно, склади забезпечують можливість лікування бронхіальної астми помірного та важкого ступеня тяжкості, яка є неконтрольованою при введенні середньої або високої дози ICS:LABA з одним або декількома загостреннями та частими симптомами.

Термін "біля" використовується у даному документі для позначення приблизно, орієнтовно, орієнтовно або приблизно. Якщо термін "біля" застосовується у поєднанні із числовим діапазоном, він змінює цей діапазон, шляхом розширення межі вище та нижче представлених числових значень. Як правило, термін "близько" використовується у даному документі для модифікації числового значення вище та нижче зазначеного значення на величину відхилення, що становить 10 %.

Як описано у даному документі, для стабілізації та доставки фармацевтично активних засобів представлені сухі порошкоподібні склади. Відповідно, сухі порошкоподібні склади складають для доставки у легені, у тому числі шляхом інгаляції через інгалятор сухого порошку (DPI).

Як використовується у даному документі, термін "сухий порошкоподібний склад" відноситься до складу, який містить безліч твердих мікрочастинок у порошкоподібній композиції, яка зазвичай містить менш ніж близько 20 % вологи, більш прийнятніше менш ніж 10 % вологи, менш ніж близько 5-6 % вологи або близько 3 % вологи. Як описано у даному документі, сухі порошкоподібні склади можна застосовувати для доставки пацієнту за допомогою інгаляції. В інших варіантах здійснення сухі порошкоподібні склади можна розводити та вводити в рідкій формі перорально, внутрішньовенно, парентерально і т. д. Як описано в даному документі, перевага представлених сухих порошкоподібних складів полягає у підвищеному обсязі виробництва для поліпшення технологічності виробництва. Додатковою перевагою є те, що платформа складу, описана у даному документі, забезпечує високу щільність спресованої нерозфасованої речовини. Це означає, що на одиницю доставки (наприклад, усередині капсули) може бути упакована більша маса порошку. Це означає, що на одиницю доставки суб'єкту може бути доставлена висока доза активного засобу. Така несподівана перевага може покращити комплаєнтність пацієнта за рахунок зниження кількості разових доз, необхідних для вживання. Крім того, висока щільність спресованої нерозфасованої речовини може сприяти доставці

більш високої дози активного засобу, при цьому збільшується верхня межа діапазону доз, що вводяться. Це може забезпечити доставку активних засобів у терапевтично ефективних дозах у випадках, коли раніше це було неможливо.

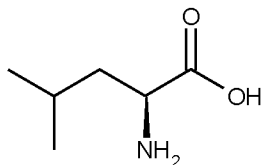
Термін "мікрочастка", як використовується у даному документі, відноситься до твердої частки, що характеризується середнім масовим діаметром (MMD), що становить менше 20 мкм. Середній масовий діаметр є показником середнього розміру частинок мікрочастинок, виміряного із використанням відповідного способу, у тому числі, наприклад, відцентрового осадження, електронної мікроскопії, світлорозсіювання, лазерної дифракції і т. д.

Сухі порошкоподібні склади, описані у даному документі, відповідно містять безліч мікрочастинок. Як використовується у даному документі, термін "безліч" відноситься до 2 або більше одиниць та відповідно відноситься до 5 або більше, 10 або більше, 50 або більше, 100 або більше, 500 або більше, 1000 або більше і т. д.

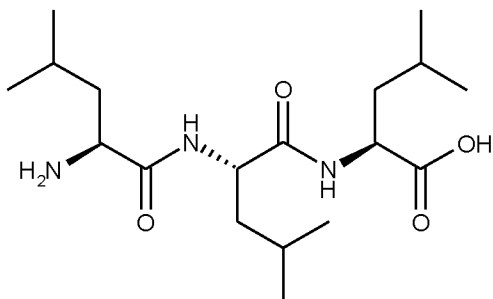
У варіантах здійснення сухі порошкоподібні склади містять безліч мікрочастинок, при цьому мікрочастинки прийнятніше містять лейцин; від близько 1 % до близько 10 % трилейцину за вагою; та зв'язуючий фрагмент антитіла до TSLP, визначений у даному документі. Якщо не зазначено інше, "активний засіб" відноситься до антигензв'язуючого фрагмента, отриманого з антитіла до TSLP, як визначено у даному документі.

На Фіг. 7 зображена мікрофотографія, отримана за допомогою скануючого електронного мікроскопа, мікрочастинок ілюстративного сухого порошкоподібного складу, представленого у даному документі. У додаткових варіантах здійснення сухі порошкоподібні склади, що містять безліч мікрочастинок, прийнятніше містять від близько 1 % до близько 25 % лейцину; від близько 1 % до близько 10 % трилейцину; та активний засіб.

Як використовується у даному документі, термін "лейцин", незалежно від того, присутній він у вигляді окремої амінокислоти або у вигляді амінокислотного компонента пептиду, відноситься до амінокислоти лейцину ($C_6H_{13}NO_2$), яка може являти собою рацемічну суміш або її D- або L -форму, а також модифіковані форми лейцину (тобто де один або декілька атомів лейцину були заміщені іншим атомом або функціональною групою). Хімічна структура лейцину представлена нижче:



Термін "трилейцин", як використовується у даному документі, відноситься до хімічної сполуки, в якій три молекули лейцину зв'язані разом у вигляді пептиду, такого як лейцин-лейцин-лейцин (Leu-Leu-Leu), $C_{18}H_{35}N_3O_4$. Хімічна структура трилейцину представлена нижче:



Кількості лейцину та трилейцину, представлені у даному документі, якщо не зазначено інше, представлені у вагових відсотках (ваг. %) складів. Оскільки сухі порошкоподібні склади по суті не містять води або містять вкрай малу її кількість, вагові компоненти сухих порошкоподібних складів, таким чином, є відсотками сухої ваги кінцевих складів.

У варіантах здійснення складу, що містить лейцин; трилейцин; та антигензв'язуючий фрагмент, лейцин та трилейцин підтримують у необхідному діапазоні співвідношень, який забезпечує покращені характеристики щільності спресованої нерасфасованої речовини, описані у даному документі, а також забезпечує необхідні характеристики мікрочастинок, які дозволяють поліпшити зберігання та доставку. У варіантах здійснення вагове співвідношення лейцину та трилейцину у мікрочастинках, тобто співвідношення лейцин:трилейцин, становить від близько 0,1:1 до 30:1. У додаткових варіантах здійснення лейцин та трилейцин присутні у ваговому співвідношенні лейцин:трилейцин, що становить

від близько 0,1:1 до 25:1, від близько 0,5:1 до близько 20:1, від близько 1:1 до близько 20:1, від близько 1:1 до близько 15:1, від близько 1:1 до близько 12:1, від близько 1:1 до близько 10:1, від близько 1:1 до близько 7:1, від близько 1:1 до близько 6:1, або близько 1:1, близько 2:1, близько 3:1, близько 4:1, близько 5:1, близько 5,1:1, близько 5,2:1, близько 5,25:1, близько 5,3:1, близько 5,4:1, близько 5,5:1, близько 5,75:1 або близько 6:1.

Якщо не зазначено інше, співвідношення, описані у даному документі, виражені у вигляді вагових % (ваг./ваг. - також позначається як "вагове співвідношення"), тобто вага лейцину:вага трилейцину у складах, описаних у даному документі. Співвідношення досягаються за рахунок забезпечення необхідної концентрації лейцину та трилейцину у вихідній сировині у мг/мл, а потім сушіння для видалення розчинника у вихідній сировині з отриманням розпилених мікрочастинок, де вихідне співвідношення концентрацій (виражене в мг/мл), підтримується у вигляді кінцевого співвідношення лейцин:трилейцин за вагою.

Ілюстративні вагові відсотки лейцину та трилейцину, які можна використовувати у сухих порошкоподібних складах для досягнення цих співвідношень, описані у даному документі. Відповідно, сухі порошкоподібні склади містять від близько 5 % до близько 15 % лейцину та від близько 1 % до близько 5 % трилейцину. У варіантах здійснення сухі порошкоподібні склади містять від близько 8 % до близько 11 % лейцину та від близько 2 % до близько 4 % трилейцину, та у деяких варіантах здійснення сухі порошкоподібні склади містять близько 10,5 % лейцину та близько 2 % трилейцину.

В ілюстративних варіантах здійснення сухі порошкоподібні склади містять від близько 1 % до близько 10 % трилейцину за вагою, більш прийнятніше від близько 1 % до близько 9 %, від близько 1 % до близько 8 %, від близько 1 % до близько 7 %, від близько 1 % до близько 6 %, від близько 1 % до близько 5 %, від близько 2 % до близько 10 %, від близько 2 % до близько 9 %, від близько 2 % до близько 8 %, від близько 2 % до близько 7 %, від близько 2 % до близько 6 %, від близько 2 % до близько 5 %, від близько 2 % до близько 4 %, або близько 1 %, близько 1,5 %, близько 2 %, близько 2,5 %, близько 3 %, близько 3,5 %, близько 4 %, близько 4,5 %, близько 5 %, близько 5,5 % або близько 6 % трилейцину за вагою.

В ілюстративних варіантах здійснення сухі порошкоподібні склади містять від близько 1 % до близько 25 % лейцину за вагою, більш прийнятніше від близько 2 % до близько 20 %, від близько 3 % до близько 20 %, від близько 4 % до близько 20 %, від близько 5 % до близько 20 %, від близько 5 % до близько 15 %, від близько 7 % до близько 12 %, від близько 8 % до близько 11 %, від близько 9 % до близько 11 %, від близько 10 % до близько 11 %, або близько 5 %, близько 6 %, близько 7 %, близько 8 %, близько 8,5 %, близько 9 %, близько 10 %, близько 10,5 %, близько 11 %, близько 11,5 %, близько 12 %, близько 12,5 % або близько 13 % лейцину за вагою.

У відповідних варіантах здійснення сухі порошкоподібні склади містять від близько 8 % до близько 11 % лейцину та від близько 2 % до близько 4 % трилейцину за вагою, більш прийнятніше від близько 9 % до близько 11 % лейцину та від близько 2 % до близько 3 % трилейцину за вагою. В ілюстративних варіантах здійснення сухі порошкоподібні склади містять близько 10,5 % лейцину та близько 2 % трилейцину за вагою.

Як описано у даному документі, несподівано було виявлено, що застосування комбінації лейцину та трилейцину у сухому порошкоподібному складі дозволяє знизити загальну кількість лейцину та трилейцину, необхідну для отримання мікрочастинок, порівняно із сухими порошкоподібними складами, які містять тільки один із цих компонентів, при цьому забезпечується потрібна стабільність. У певних варіантах здійснення склади за даним винаходом характеризуються підвищеною щільністю спресованої нерасфасованої речовини порівняно зі складами, відомими із рівня техніки, що може забезпечити доставку активного засобу більш високої концентрації у легені пацієнта після інгаляції. Ці покращені характеристики, мабуть, пов'язані із включенням у мікрочастинок лейцину та трилейцину.

Ілюстративний спосіб отримання сухого порошкоподібного складу відповідно до варіантів здійснення даного документа може здійснюватися наступним чином. Рідку вихідну сировину, що містить необхідні кінцеві компоненти сухого порошкоподібного складу, розпиляють за допомогою розпилювача до дрібнодисперсного аерозолю. Потім дрібнодисперсний аерозоль сушать, як описано у даному документі. Розпилені краплі містять розчинені компоненти, початково у вигляді крапель рідини. По мірі висихання краплі різні компоненти складу починають насичуватися та осаджуватися з різними швидкостями. Як описано у даному документі, навколо зовнішньої поверхні мікрочастинок сухих порошкоподібних складів починає утворюватися оболонка. Ця оболонка прийнятніше містить компоненти лейцину та трилейцину на зовнішній поверхні оболонки. Слід зазначити, що лейцин та трилейцин прийнятніше розташовуються на зовнішній поверхні мікрочастинок, у той час як лейцин та трилейцин у менших кількостях можуть виявлятися у всьому об'ємі мікрочастинок. У варіантах здійснення більш високі концентрації лейцину та трилейцину зазвичай виявляються на поверхні або поблизу поверхні мікрочастинок, а не поблизу центру мікрочастинок. У варіантах здійснення центр мікрочастинок містить значну кількість активного засобу разом із іншими допоміжними компонентами, як описано у даному документі, прийнятніше в аморфній формі. Як використовується у даному документі, термін "значна кількість" активного засобу означає, що щонайменше близько 60 %

активного засобу (тобто всього активного засобу у складі) знаходиться у центрі мікрочастинок або поблизу нього, прийнятніше щонайменше близько 70 %, та більш прийнятніше щонайменше близько 75 %, щонайменше близько 80 %, щонайменше близько 85 %, щонайменше близько 90 %, щонайменше близько 95 %, та у варіантах здійснення близько 95 %-100 % активного засобу знаходиться у центрі або поблизу центру мікрочастинок.

У додаткових варіантах здійснення мікрочастинки містять лейцин та трилейцин, локалізовані по суті у всьому обсязі мікрочастинок, але у більш високих кількостях на поверхні мікрочастинок або поблизу неї. Як використовується у даному документі, термін "по суті у всьому обсязі мікрочастинок" означає, що лейцин та/або трилейцин розташовуються у градієнті від зовнішньої поверхні мікрочастинок до центру мікрочастинок, але прийнятніше зі зменшенням кількості лейцину та/або трилейцину по мірі просування до центру, та у варіантах здійснення лейцин або трилейцин не виявляються у центрі мікрочастинок, де знаходиться активний засіб. В інших варіантах здійснення кількості лейцину та трилейцину можуть бути по суті однаковими по всій поверхні поперечного зрізу мікрочастинок.

У варіантах здійснення по суті кожна із мікрочастинок сухих порошкоподібних складів містить лейцин та трилейцин. Іншими словами, прийнятніше щонайменше близько 60 % мікрочастинок містять лейцин та трилейцин або щонайменше близько 70 %, та прийнятніше щонайменше близько 75 %, щонайменше близько 80 %, щонайменше близько 85 %, щонайменше близько 90 %, щонайменше близько 95 %, та у варіантах здійснення близько 95 %-100 % мікрочастинок містять лейцин та трилейцин. У варіантах здійснення кожна із мікрочастинок сухих порошкоподібних складів містить лейцин та трилейцин.

У додаткових варіантах здійснення лейцин та/або трилейцин можна виявити у сухих порошкоподібних складах, але вони не містяться всередині мікрочастинки складу або не асоційовані із нею. Таким чином, у варіантах здійснення у сухих порошкоподібних складах може бути виявлений вільний лейцин та/або трилейцин, не асоційовані із мікрочастинками. Проте у цілому кількість вільного лейцину та/або трилейцину (тобто не асоційованих із мікрочастинкою) становить порядку менш ніж близько 10 %, менш ніж близько 5 %, менш ніж близько 1 %, та більш прийнятніше менш ніж близько 0,1 % від загальної кількості лейцину та/або трилейцину у складах.

У певних варіантах здійснення сухі порошкоподібні склади, описані у даному документі, характеризуються щільністю спресованої нерозфасованої речовини, що дозволяє доставляти велику кількість активного засобу. "Щільність спресованої нерозфасованої речовини" відноситься до маси на одиницю об'єму (відповідно г/см^3) порошку при вимірі у наступних умовах. Відповідний аналіз для вимірювання щільності спресованої нерасфасованої речовини (сBD) описаний у прикладах (див., наприклад, Приклад 6). Прийнятніше щільність спресованої нерасфасованої речовини (сBD) порошоків вимірюють із використанням аналізатора щільності, такого як аналізатор щільності GeoPyc® Model 1360 (Micromeritics, Норкрос, Джорджія). Зразки порошку прийнятніше отримують у середовищі із низькою вологістю ($<5\% \text{ RH}$) перед перенесенням у камеру для проб аналізатора щільності, яку продували газоподібним азотом. Фіксують масу нетто зразка порошку, а потім за допомогою поршня до зразка прикладають зусилля стиснення 10-14 Н, прийнятніше 12 Н, зі швидкістю 250-350 етапів ущільнення за секунду, прийнятніше 300 етапів ущільнення за секунду. Лінійна відстань, пройдена поршнем на кожному етапі ущільнення, перетворюється на об'ємне зміщення зразка порошку. Середнє значення вимірювань на кожному етапі ущільнення потім перетворюється на розрахункове значення щільності нерозфасованої речовини для сухого порошкоподібного складу, виражене у г/см^3 .

Прийнятніше щільність спресованої нерасфасованої речовини сухого порошкоподібного складу, описаного у даному документі, становить щонайменше $0,4 \text{ г/см}^3$, та прийнятніше від близько $0,4 \text{ г/см}^3$ до близько $1,0 \text{ г/см}^3$, та більш прийнятніше близько $0,4\text{-}0,9 \text{ г/см}^3$, близько $0,4\text{-}0,8 \text{ г/см}^3$, близько г/см^3 , близько $0,5\text{-}0,8 \text{ г/см}^3$, близько $0,6\text{-}0,8 \text{ г/см}^3$, або близько $0,4 \text{ г/см}^3$, близько $0,5 \text{ г/см}^3$, близько $0,6 \text{ г/см}^3$, близько $0,7 \text{ г/см}^3$, або близько $0,8 \text{ г/см}^3$. У деяких варіантах здійснення щільність спресованої нерасфасованої речовини сухого порошкоподібного складу, описаного у даному документі, становить від близько $0,4 \text{ г/см}^3$ до близько $0,9 \text{ г/см}^3$. У деяких варіантах здійснення щільність спресованої нерасфасованої речовини сухого порошкоподібного складу, описаного у даному документі, становить від близько $0,5 \text{ г/см}^3$ до близько $0,8 \text{ г/см}^3$.

На Фіг. 8А зображені результати щільності спресованої нерозфасованої речовини залежно від вмісту лейцину та трилейцину у сухих порошкоподібних складах, описаних у даному документі. Кожна із колонок представляє кількість трилейцину у складах. У кожній колонці кількість лейцину підвищується від близько 1 % до близько 20 %. Як продемонстровано, підвищення кількості трилейцину призводить до зниження щільності спресованої нерозфасованої речовини, а підвищення вмісту лейцину у кожній групі також знижує щільність спресованої нерозфасованої речовини. Для досягнення щільності спресованої нерозфасованої речовини, що становить від близько $0,5 \text{ г/см}^3$ до близько $0,8 \text{ г/см}^3$, кількість трилейцину повинна підтримуватися на рівні нижче 4 % за вагою.

Склади, описані у даному документі, містять антигензв'язуючий фрагмент антитіла до тимічного стромального лімфоєтину (антитіло до TSLP). Прийнятніше, автори даного винаходу виявили, що

склади, описані у даному документі, забезпечують доставку антигензв'язуючого фрагмента за допомогою інгаляції безпосередньо у легеню. Доставка терапевтично активного антигензв'язуючого фрагмента антитіла до TSLP за допомогою інгаляції прийнятніше дозволяє використовувати біологічні лікарські препарати для лікування бронхіальної астми у первинній системі охорони здоров'я.

Послідовність поліпептиду TSLP представлена нижче:

Met Phe Pro Phe Ala Leu Tyr Val Leu Ser Val Ser Phe Arg Lys Ile Phe Ile Leu Gln Leu Val Gly Leu Val Leu Thr Tyr Asp Phe Thr Asn Cys Asp Phe Glu Lys Ile Lys Ala Ala Tyr Leu Ser Thr Ile Ser Lys Asp Leu Ile Thr Tyr Met Ser Gly Thr Lys Ser Thr Glu Phe Asn Asn Thr Val Ser Cys Ser Asn Arg Pro His Cys Leu Thr Glu Ile Gln Ser Leu Thr Phe Asn Pro Thr Ala Gly Cys Ala Ser Leu Ala Lys Glu Met Phe Ala Met Lys Thr Lys Ala Ala Leu Ala Ile Trp Cys Pro Gly Tyr Ser Glu Thr Gln Ile Asn Ala Thr Gln Ala Met Lys Lys Arg Arg Lys Arg Lys Val Thr Thr Asn Lys Cys Leu Glu Gln Val Ser Gln Leu Gln Gly Leu Trp Arg Arg Phe Asn Arg Pro Leu Leu Lys Gln Gln (SEQ ID NO: 27)

Термін "антитіло", як використовується у даному документі, відноситься до білка, що містить щонайменше два важкі ланцюги та два легкі ланцюги, з'єднані дисульфідними зв'язками. Термін "антитіло" включає антитіла, що зустрічаються у природі, а також всі рекомбінантні форми антитіл, наприклад, гуманізовані антитіла, повністю людські антитіла та химерні антитіла. Кожен важкий ланцюг складається з варіабельної області важкого ланцюга (VH) та константної області важкого ланцюга (CH). Кожен легкий ланцюг складається із варіабельної області легкого ланцюга (VL) та константної області легкого ланцюга (CL). Однак термін "антитіло" також включає інші типи антитіл, такі як однодоменні антитіла, антитіла з важким ланцюгом, тобто антитіла, що складаються тільки з одного або декількох, зокрема, двох важких ланцюгів, та нанотіла, тобто антитіла, що складаються лише з одного мономерного варіабельного домену. Зв'язуючі фрагменти антитіл включають (i) фрагменти Fab, моновалентні фрагменти, що складаються з варіабельної області та першого константного домену кожного із важкого та легкого ланцюга; (ii) фрагменти F(ab)₂, бівалентні фрагменти, що містять два фрагменти Fab, зв'язані дисульфідним містком у шарнірній області; (iii) фрагменти Fd, що складаються із варіабельної області та першого константного домену CH1 важкого ланцюга; (iv) фрагменти Fv, що складаються із варіабельної області важкого ланцюга та легкого ланцюга одного плеча антитіла; (v) фрагменти scFv, фрагменти Fv, що складаються з одного поліпептидного ланцюга; (vi) фрагменти (Fv)₂, що складаються із двох ковалентно зв'язаних один з одним фрагментів Fv; (vii) варіабельний домен важкого ланцюга; та (viii) мультитіла, що складаються із варіабельної області важкого ланцюга та варіабельної області легкого ланцюга, ковалентно зв'язані один з одним таким чином, що асоціація варіабельних областей важкого ланцюга та легкого ланцюга може відбуватися лише міжмолекулярно, але не внутрішньомолекулярно. У варіантах здійснення зв'язуючий фрагмент антитіла за даним винаходом вибирають із Fab, Fab', F(ab')₂, scFv, мінітіла або діатіла. У деяких варіантах здійснення зв'язуючий фрагмент антитіла являє собою Fab. У деяких варіантах здійснення антитіло до TSLP, з якого отримують антигензв'язуючий фрагмент, являє собою IgG1.

Послідовності ілюстративного Fab за даним винаходом (позначені у даному документі Fab1) включають:

FAB1 HCDR1

Thr Tyr Gly Met His (SEQ ID NO: 1)

FAB1 HCDR2

Val Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Lys His Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly (SEQ ID NO: 2)

FAB1 HCDR3

Ala Pro Gln Trp Glu Leu Val His Glu Ala Phe Asp Ile (SEQ ID NO: 3)

FAB1 VH ВАЖКОГО ЛАНЦЮГА

Gln Met Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Arg Thr Tyr Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Val Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Lys His Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Thr Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Asn Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Ala Pro Gln Trp Glu Leu Val His Glu Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser (SEQ ID NO: 4)

FAB1 LCDR1

Gly Gly Asn Asn Leu Gly Ser Lys Ser Val His (SEQ ID NO: 5)

FAB1 LCDR2

Asp Asp Ser Asp Arg Pro Ser (SEQ ID NO: 6)

FAB1 LCDR3

Gln Val Trp Asp Ser Ser Ser Asp His Val Val (SEQ ID NO: 7)

FAB1 VL ЛЕГКОГО ЛАНЦЮГА

Ser Tyr Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ala Pro Gly Gln Thr Ala Arg Ile Thr Cys Gly Gly Asn Asn Leu Gly Ser Lys Ser Val His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Val Tyr Asp Asp Ser Asp Arg Pro Ser Trp Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Arg Gly Glu Ala Gly Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Asp Ser Ser Ser Asp His Val Val Phe Gly Gly Gly Thr

Lys Leu Thr Val Leu (SEQ ID NO: 8)

FAB1 VH ВАЖКОГО ЛАНЦЮГА (нуклеїнова кислота)

cagatgcagt tgggtgaatc tgggtggcggc gtggtgcagc ctggcagatc tctgagactg	60
tctgtgccc cctccggctt caccctcaga acctacggaa tgcactgggt cgcacaggcc	120
cctggcaaag gattggaatg ggtcgccgtg atttggtacg acggctccaa caagcactac	180
gccgactccg tgaagggcag attcaccatc accagagaca actccaagaa caccctgaac	240
ctgcagatga actccctgag agccgaggac accgccgtgt actattgtgc tagagcccct	300
cagtgggaac tcgtgcatga ggccttgac atctggggcc agggaacaat ggtcaccgtc	360
tcctca 366 (SEQ ID NO: 9)	

FAB1 VL ЛЕГКОГО ЛАНЦЮГА (нуклеїнова кислота)

tcatatgttc ttacacaacc accgtcggtt tcgggtgctc caggacaacc agctcgaatt	60
acatgcggag gaaacaacct cggatcgaag tcggttcact ggatcaaca aaagccagga	120
caagctccag ttctcgtggt gtacgatgat tcagatcgac catcatggat cccagagcga	180
ttctcaggat caaactcggg aaatactgcc acgctcaca ttacacgcgg agaagcggga	240
gatgaagctg attactattg ccaagtgtgg gactcgtcgt cagatcatgt tgtttcga	300
ggtggaacaa agctcacagt gctc	324 (SEQ ID NO: 10)

FAB1 ВАЖКОГО ЛАНЦЮГА (поліпептид)

Gln Met Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Arg Thr Tyr Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Val Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Lys His Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Thr Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Asn Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Ala Pro Gln Trp Glu Leu Val His Glu Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys (SEQ ID NO: 28)

FAB1 ЛЕГКОГО ЛАНЦЮГА (поліпептид)

Ser Tyr Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ala Pro Gly Gln Thr Ala Arg Ile Thr Cys Gly Gly Asn Asn Leu Gly Ser Lys Ser Val His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Val Tyr Asp Asp Ser Asp Arg Pro Ser Trp Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Arg Gly Glu Ala Gly Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Asp Ser Ser Ser Asp His Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu

Gly Gln Pro Lys Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val Lys Ala Gly Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser (SEQ ID NO: 29)

FAB1 ВАЖКОГО ЛАНЦЮГА (нуклеїнова кислота)

cagatgcagt tgggtgaatc tgggtggcggc gtggtgcagc ctggcagatc tctgagactg	60
tctgtgccc cctccggctt caccctcaga acctacggaa tgcactgggt cgcacaggcc	120
cctggcaaag gattggaatg ggtcgccgtg atttggtacg acggctccaa caagcactac	180
gccgactccg tgaagggcag attcaccatc accagagaca actccaagaa caccctgaac	240
ctgcagatga actccctgag agccgaggac accgccgtgt actattgtgc tagagcccct	300
cagtgggaac tcgtgcatga ggccttgac atctggggcc agggaacaat ggtcaccgtc	360
tcctcagcct ccaccaaggg cccatcggtc ttccccctgg caccctctc caagagcacc	420
ttcggggca cagcggccct gggctgcctg gtcaaggact actccccga accggtgacg	480
gtgtcgtgga actcaggcgc cctgaccagc ggcgtgcaca cctccccgc tgcctacag	540
tcctcaggac tctactccct cagcagcgtg gtgacagtgc cctccagcag cttgggcacc	600
cagacctaca tctgaacgt gaatcacaag cccagcaaca ccaaggtgga caagagagtt	660
gagcccaaat ctgtgacaa	681 (SEQ ID NO: 30)

FAB1 ЛЕГКОГО ЛАНЦЮГА (нуклеїнова кислота)

tcatatgttc ttacacaacc accgtcggtt tcgggtgctc caggacaacc agctcgaatt	60
acatgcggag gaaacaacct cggatcgaag tcggttcact ggatcaaca aaagccagga	120
caagctccag ttctcgtggt gtacgatgat tcagatcgac catcatggat cccagagcga	180
ttctcaggat caaactcggg aaatactgcc acgctcaca ttacacgcgg agaagcggga	240
gatgaagctg attactattg ccaagtgtgg gactcgtcgt cagatcatgt tgtttcga	300
ggtggaacaa agctcacagt gctcggtcag cccaaggctg cccctcgggt cactctgttc	360
ccgccctct ctgaggagct tcaagccaac aaggccacac tgggtgtct cataagtgc	420
tttaccgg gagccgtgac agtggcctgg aaggcagata gcagccccgt caagcgggga	480

gtggagacca ccacaccctc caaacaagc aacaacaagt acgcgccag cagctatctg	540
agcctgacgc ctgagcagtg gaagtcacc agaagctaca gctgccaggt cacgcatgaa	600
gggagaccgc tggagaagac agtggcccct acagaatgtt ca	642 (SEQ ID NO: 31)

Сухі порошкоподібні склади, представлені у даному документі, містять безліч мікрочастинок, при цьому мікрочастинки містять: лейцин; від близько 1 % до близько 10 % трилейцину за вагою; та антигензв'язуючий фрагмент антитіла до тимічного стромального лімфопоетину (TSLP), при цьому лейцин та трилейцин присутні при співвідношенні концентрацій лейцин:трилейцин від близько 0,1:1 до близько 30:1.

У певних варіантах здійснення антигензв'язуючий фрагмент у сухому порошкоподібному складі містить

а. варіабельний домен важкого ланцюга, що містить:

послідовність CDR1 важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність, представлену у SEQ ID NO: 1, послідовність CDR2 важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність, представлену у SEQ ID NO: 2, та послідовність CDR3 важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність, представлену у SEQ ID NO: 3, при цьому будь-яка з CDR1, 2 або 3 важкого ланцюга необов'язково містить одну амінокислотну заміну, та

б. варіабельний домен легкого ланцюга, що містить:

послідовність CDR1 легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність, представлену у SEQ ID NO: 5, послідовність CDR2 легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність, представлену у SEQ ID NO: 6, та послідовність CDR3 легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність, представлену у SEQ ID NO: 7, при цьому будь-яка з CDR1, 2 або 3 легкого ланцюга необов'язково містить одну амінокислотну заміну.

У певних варіантах здійснення антигензв'язуючий фрагмент у сухому порошкоподібному складі містить варіабельний домен важкого ланцюга, що містить послідовність CDR1 важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність, представлену у SEQ ID NO: 1, послідовність CDR2 важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність, представлену у SEQ ID NO: 2, та послідовність CDR3 важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність, представлену у SEQ ID NO: 3, та послідовність CDR1 легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність, представлену у SEQ ID NO: 5, послідовність CDR2 легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність, представлену у SEQ ID NO: 6, та послідовність CDR3 легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність, представлену у SEQ ID NO: 7.

У додаткових варіантах здійснення антигензв'язуючий фрагмент для застосування у сухих порошкоподібних складах містить варіабельний домен важкого ланцюга, що містить SEQ ID NO: 4; та варіабельний домен легкого ланцюга, що містить SEQ ID NO: 8. У додаткових варіантах здійснення антигензв'язуючий фрагмент для застосування у сухих порошкоподібних складах містить важкий ланцюг, що містить послідовність, представлену у SEQ ID NO: 28; та легкий ланцюг, що містить послідовність, представлену у SEQ ID NO: 29.

У додаткових варіантах здійснення антигензв'язуючий фрагмент для застосування у сухих порошкоподібних складах містить варіабельний домен важкого ланцюга, який являє собою послідовність амінокислот, яка на щонайменше 95 %, 90 %, 85 % або 80 % ідентична SEQ ID NO: 4, та варіабельний домен легкого ланцюга, який являє собою послідовність амінокислот, яка на щонайменше 95 %, 90 %, 85 % або 80 % ідентична SEQ ID NO: 8.

У додаткових варіантах здійснення антигензв'язуючий фрагмент для застосування у сухих порошкоподібних складах містить (а) варіабельний домен важкого ланцюга, який являє собою послідовність амінокислот, яка на щонайменше 95 %, 90 %, 85 % або 80 % ідентична SEQ ID NO: 4; або послідовність амінокислот, що кодується полінуклеотидною послідовністю, яка на щонайменше 80 % ідентична SEQ ID NO: 30, (б) варіабельний домен легкого ланцюга, який являє собою послідовність амінокислот, яка на щонайменше 95 %, 90 %, 85 % або 80 % ідентична SEQ ID NO: 8; або послідовність амінокислот, що кодується полінуклеотидною послідовністю, яка на щонайменше 80 % ідентична SEQ ID NO: 31; або варіабельний домен важкого ланцюга (а) та варіабельний домен легкого ланцюга (б)

Додаткові послідовності CDR легкого ланцюга (LCDR), варіабельного домену легкого ланцюга (VL), CDR важкого ланцюга (HCDR) та варіабельного домену важкого ланцюга (VH) антигензв'язуючих фрагментів за даним винаходом включають:

FAB2 LCDR1

Gly Gly Asn Asn Ile Gly Ser Lys Ser Val His (SEQ ID NO: 11)

FAB2 VL ЛЕГКОГО ЛАНЦЮГА

Ser Tyr Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ala Pro Gly Gln Thr Ala Arg Ile Thr Cys Gly Gly Asn Asn Ile Gly Ser Lys Ser Val His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Val Tyr Asp Asp Ser Asp Arg Pro Ser Trp Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Arg Gly Glu Ala Gly Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Asp Ser Ser Ser Asp His Val Val Phe Gly Gly Gly Thr

Lys Leu Thr Val Leu (SEQ ID NO: 12)

FAB3 LCDR1

Gly Gly Asn Asn Val Gly Ser Lys Ser Val His (SEQ ID NO: 13)

FAB3 VL ЛЕГКОГО ЛАНЦЮГА

Ser Tyr Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ala Pro Gly Gln Thr Ala Arg Ile Thr Cys Gly Gly Asn Asn Val Gly Ser Lys Ser Val His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Val Tyr Asp Asp Ser Asp Arg Pro Ser Trp Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Arg Gly Glu Ala Gly Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Asp Ser Ser Ser Asp His Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu (SEQ ID NO: 14)

FAB4 HCDR2

Val Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Lys His Tyr Ala Glu Ser Val Lys Gly (SEQ ID NO: 15)

FAB4 VH ВАЖКОГО ЛАНЦЮГА

Gln Met Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Arg Thr Tyr Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Val Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Lys His Tyr Ala Glu Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Thr Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Asn Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Ala Pro Gln Trp Glu Leu Val His Glu Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser (SEQ ID NO: 16)

FAB5 HCDR2

Val Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Lys His Tyr Ala Asp Ser Val Lys Ala (SEQ ID NO: 17)

FAB5 VH ВАЖКОГО ЛАНЦЮГА

Gln Met Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Arg Thr Tyr Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Val Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Lys His Tyr Ala Asp Ser Val Lys Ala Arg Phe Thr Ile Thr Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Asn Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Ala Pro Gln Trp Glu Leu Val His Glu Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser (SEQ ID NO: 18)

FAB6 LCDR1

Gly Gly Gln Asn Leu Gly Ser Lys Ser Val His (SEQ ID NO: 19)

FAB6 VL ЛЕГКОГО ЛАНЦЮГА

Ser Tyr Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ala Pro Gly Gln Thr Ala Arg Ile Thr Cys Gly Gly Gln Asn Leu Gly Ser Lys Ser Val His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Val Tyr Asp Asp Ser Asp Arg Pro Ser Trp Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Arg Gly Glu Ala Gly Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Asp Ser Ser Ser Asp His Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu (SEQ ID NO: 20)

FAB7 LCDR1

Gly Gly Asn Gln Leu Gly Ser Lys Ser Val His (SEQ ID NO: 21)

FAB7 VL ЛЕГКОГО ЛАНЦЮГА

Ser Tyr Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ala Pro Gly Gln Thr Ala Arg Ile Thr Cys Gly Gly Asn Gln Leu Gly Ser Lys Ser Val His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Val Tyr Asp Asp Ser Asp Arg Pro Ser Trp Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Arg Gly Glu Ala Gly Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Asp Ser Ser Ser Asp His Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu (SEQ ID NO: 22)

FAB8 LCDR3

Gln Val Trp Asp Thr Ser Ser Asp His Val Val (SEQ ID NO: 23)

FAB8 VL ЛЕГКОГО ЛАНЦЮГА

Ser Tyr Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ala Pro Gly Gln Thr Ala Arg Ile Thr Cys Gly Gly Asn Asn Leu Gly Ser Lys Ser Val His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Val Tyr Asp Asp Ser Asp Arg Pro Ser Trp Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Arg Gly Glu Ala Gly Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Asp Thr Ser Ser Asp His Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu (SEQ ID NO: 24)

FAB9 LCDR3

Gln Val Trp Asp Ser Thr Ser Asp His Val Val (SEQ ID NO: 25)

FAB9 VL ЛЕГКОГО ЛАНЦЮГА

Ser Tyr Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ala Pro Gly Gln Thr Ala Arg Ile Thr Cys Gly Gly Asn Asn Leu Gly Ser Lys Ser Val His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Val Tyr Asp Asp Ser Asp Arg Pro Ser Trp Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Arg Gly Glu Ala Gly Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Asp Ser Thr Ser Asp His Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu (SEQ ID NO: 26).

У певних варіантах здійснення варіабельні домени важкого ланцюга та варіабельні домени легкого ланцюга антигензв'язуючого фрагмента за даним винаходом містять будь-яку із комбінацій послідовностей CDR, представлених у наступній таблиці:

	CDR1, 2 та 3 VH	CDR1, 2 та 3 VL
Fab ₁	SEQ ID NO: 1, 2 та 3	SEQ ID NO: 5, 6 та 7
Fab ₂	SEQ ID NO: 1, 2 та 3	SEQ ID NO: 11, 6 та 7
Fab ₃	SEQ ID NO: 1, 2 та 3	SEQ ID NO: 14, 6 та 7
Fab ₄	SEQ ID NO: 1, 15 та 3	SEQ ID NO: 5, 6 та 7
Fab ₅	SEQ ID NO: 1, 17 та 3.	SEQ ID NO: 5, 6 та 7
Fab ₆	SEQ ID NO: 1, 2 та 3	SEQ ID NO: 19, 6 та 7
Fab ₇	SEQ ID NO: 1, 2 та 3	SEQ ID NO: 19, 6 та 7
Fab ₈	SEQ ID NO: 1, 2 та 3	SEQ ID NO: 5, 6 та 23
Fab ₉	SEQ ID NO: 1, 2 та 3	SEQ ID NO: 5, 6 та 25

Склад, розкритий у даному документі, можна вводити у комбінації із додатковим активним засобом для лікування бронхіальної астми. Ілюстративні активні засоби, які можна вводити у комбінації із сухим порошкоподібним складом, описаним у даному документі, включають без обмеження інгалаційні кортикостероїди (ICS), бронходилататори (у тому числі бета-агоністи тривалої дії (LABA), антимускаринові агоністи тривалої дії (LAMA), бета-агоністи короткої дії (SABA) та мускаринові $\beta 2$ -агоністи (MABA)), антигістамінні засоби, антилейкотрієни, інгібітори PDE-4, інгібітори Janus-кінази та інгібітори фосфоінозитид-3-кінази. У певних варіантах здійснення додатковий активний засіб комбінують у складі за даним винаходом разом із зв'язуючим фрагментом антитіла до TSLP, розкритим у даному документі.

У відповідних варіантах здійснення сухі порошкоподібні склади, описані у даному документі, додатково містять засіб для стабілізації скла, що сприяє стабілізації складу та, зокрема, стабілізації активного засобу. "Засіб для стабілізації скла" відноситься до допоміжного засобу, який стабілізує активний засіб (відповідно, поліпептид) у сухому порошкоподібному складі, прийнятніше у результаті заміщення води на поверхні активного засобу під час сушіння або іншим чином перешкоди процесу розкладання, та утворює аморфну тверду речовину, що включає активний засіб. Приклади засобів для стабілізації скла включають аморфні сахариди, полімерні цукри, буфери, солі або синтетичні полімери (наприклад, полі-L- гліколеву кислоту), а також суміші таких компонентів. У відповідних варіантах здійснення засіб для стабілізації скла являє собою аморфний сахарид. У додаткових варіантах здійснення засіб для стабілізації скла являє собою буфер. В інших варіантах здійснення склади, описані у даному документі, можуть містити як аморфний сахарид, так і буфер, які разом або окремо можуть виступати як засіб стабілізації скла.

Ілюстративні аморфні сахариди для застосування у складах, описаних у даному документі, включають без обмеження трегалозу, сахарозу, рафінозу, інουλін, декстран, маніт та циклодекстрин. Прийнятніше аморфний сахарид присутній у кількості від близько 30 % до близько 70 % (ваговий відсоток) у сухому порошкоподібному складі. У додаткових варіантах здійснення аморфний сахарид присутній у кількості від близько 30 % до близько 65 %, від близько 35 % до близько 65 %, від близько 35 % до близько 60 %, від близько 40 % до близько 60 %, від близько 30 % до близько 50 %, або близько 30 %, близько 35 %, близько 40 %, близько 45 %, близько 50 %, близько 55 % або близько 60 %. Прийнятніше аморфний сахарид являє собою трегалозу, та він присутній у складах у кількості близько 30 %-60 %, прийнятніше близько 35 %-55 %, або близько 35 %, близько 40 %, близько 45 % або близько 50 % ваги сухого порошкоподібного складу.

Ілюстративні буфери, які можуть бути включені у сухі порошкоподібні склади, прийнятніше як засоби стабілізації скла, включають різні цитратні буфери (такі як цитрат натрію), фосфатний буфер, гістидиновий буфер, гліциновий буфер, ацетатний буфер та тартратний буфер, а також комбінації таких буферів. Кількості буферів, які можуть бути включені у сухі порошкоподібні склади, можуть знаходитися у діапазоні від близько 0,1 % до близько 20 %, більш прийнятніше від близько 0,5 % до близько 15 %, від близько 1 % до близько 10 %, від близько 2 % до близько 8 %, від близько 3 % до близько 7 %, або близько 1 %, близько 2 %, близько 3 %, близько 4 %, близько 5 %, близько 6 %, близько 7 %, близько 8 %, близько 9 % або близько 10 %.

Буфери також забезпечують контроль рН сухих порошкоподібних складів, прийнятніше підтримуючи рН від рН 5 до рН 8, наприклад, рН від рН 5 до рН 6, або від близько рН 5,5 до близько рН 6,5, або від близько рН 6 до близько рН 7, або від близько рН 6,5 до близько рН 7,5, або від близько рН 7 до близько рН 8.

У додаткових варіантах здійснення представлені сухі порошкоподібні склади, які містять близько 30 %-50 % трегалози, близько 10 %-11 % лейцину, близько 1 %-3 % трилейцину, близько 8 %-9 % цитратного буфера, та активний засіб, більш прийнятніше близько 39 % трегалози, близько 10,5 % лейцину, близько 2 % трилейцину, близько 8,5 % цитратного буфера, та активний засіб.

У додаткових варіантах здійснення представлені сухі порошкоподібні склади, які складаються по суті із близько 30 %-50 % аморфного сахариду лейцину, від близько 1 % до близько 10 % трилейцину, від близько 1 % до близько 10 % буфера, та активного засобу, при цьому лейцин та трилейцин

присутні у співвідношенні концентрацій лейцин:трилейцин, що становить від близько 0,1:1 до близько 30:1. У додаткових варіантах здійснення представлені сухі порошкоподібні склади, які складаються по суті із близько 30 %-50 % аморфного сахариду, від близько 8 % до близько 11 % лейцину, від близько 2 % до близько 4 % трилейцину, від близько 1 % до близько 10 % буфера, та активного засобу. Представлені додаткові сухі порошкоподібні склади, які складаються по суті із близько 35 %-45 % трегалози, від близько 9 % до близько 11 % лейцину, від близько 2 % до близько 3 % трилейцину, від близько 2 % до близько 85 % цитратного буфера, та активного засобу. У додаткових варіантах здійснення сухі порошкоподібні склади складаються по суті із близько 39 % трегалози, близько 10,5 % лейцину, близько 2 % трилейцину, близько 8,5 % цитратного буфера, та активного засобу.

У композиціях та складах, які "складаються по суті" із перерахованих інгредієнтів, такі композиції та склади містять зазначені компоненти та компоненти, які суттєво не впливають на основні та нові характеристики заявлених складів. Компоненти, які істотно не впливають на основні та нові характеристики складів, що заявляються, являють собою компоненти, які не обмежують здатність лейцину та трилейцину стабілізувати сухі порошкоподібні склади. Прийнятніше композиції та склади, які складаються по суті із перерахованих інгредієнтів, специфічно виключають інші амінокислоти або амінокислоти трипептидні, але можуть включати додаткові сахари, буфери і т. д.

В ілюстративних варіантах здійснення представлений сухий порошкоподібний склад, який містить близько 30 %-50 % трегалози, близько 10 %-11 % лейцину, близько 1 %-3 % трилейцину, близько 8 %-9 % цитратного буфера та близько 30 %-50 % фрагмента антитіла до TSLP, більш прийнятніше близько 39 % трегалози, близько 10,5 % лейцину, близько 2 % трилейцину, близько 8,5 % цитратного буфера та близько 40 % фрагмента антитіла до TSLP.

В інших ілюстративних варіантах здійснення представлений сухий порошкоподібний склад, який складається по суті із близько 30 %-50 % трегалози, близько 10 %-11 % лейцину, близько 1 %-3 % трилейцину, близько 8 %-9 % цитратного буфера та близько 30 %-50 % фрагмента антитіла до TSLP, більш прийнятніше близько 39 % трегалози, близько 10,5 % лейцину, близько 2 % трилейцину, близько 8,5 % цитратного буфера та близько 40 % активного засобу.

Мікрочастинки, які складають сухі порошкоподібні склади, описані у даному документі, прийнятніше характеризуються вказаним масовим медіанним аеродинамічним діаметром (MMAD), коли вони представлені в аерозольній формі. Мікрочастинки також можуть характеризуватися певним еквівалентним оптичним середньооб'ємним діаметром (oVMD). oVMD також може бути позначений розподілом частинок за розмірами (PSD або pPSD).

Як використовується у даному документі, термін "масовий аеродинамічний медіанний діаметр" або "MMAD" являє собою показник аеродинамічного розміру диспергованої мікрочастинки. Аеродинамічний діаметр використовується для опису аерозольного порошку з точки зору його осадження та являє собою діаметр сфери одиничної щільності, що характеризується тією ж швидкістю осадження у повітрі, що і мікрочастинка. Аеродинамічний діаметр охоплює форму частинки, щільність та фізичний розмір мікрочастинки. Як використовується у даному документі, термін MMAD відноситься до середньої точки або медіани аеродинамічного розподілу розміру частинок аерозольного порошку, що визначається за допомогою методу каскадного імпактора, якщо не зазначено інше. Прийнятніше мікрочастинки сухих порошкоподібних складів, представлених у даному документі, характеризуються масовим медіанним аеродинамічним діаметром (MMAD) від близько 1 мкм до близько 10 мкм, більш прийнятніше від близько 2 мкм до близько 8 мкм, від близько 2 мкм до близько 7 мкм, від близько 2 мкм до близько 6 мкм, від близько 2 мкм до близько 5 мкм, від близько 2 мкм до близько 4 мкм, від близько 3 мкм до близько 7 мкм, від близько 4 мкм до близько 7 мкм, від близько 3 мкм до близько 6 мкм, або близько 2 мкм, близько 3 мкм, близько 4 мкм, близько 5 мкм, близько 6 мкм або близько 7 мкм.

Відповідно, фракція дрібнодисперсних частинок (фракція частинок, що викидаються з інгаляційного пристрою, мають аеродинамічний діаметр частинок менш ніж 5 мкм сухих порошкоподібних складів, описаних у даному документі, становить ≥ 50 %, більш прийнятніше ≥ 60 %. Ця фракція дрібнодисперсних частинок (FPF) може сприяти низькому утримуванию у пристрої сухих порошкоподібних складів, що становить менше ніж 20 %, прийнятніше менше ніж 15 %, менше ніж 10 % або менше ніж 5 %, що залишаються у пристрої після доставки пацієнту.

У додаткових варіантах здійснення мікрочастинки прийнятніше характеризуються еквівалентним оптичним середньооб'ємним діаметром (oVMD) від близько 0,5 до близько 7 мкм. Еквівалентний оптичний середньооб'ємний діаметр (oVMD) відноситься до середнього діаметра сфери, який найкраще апроксимує конкретну оптичну взаємодію мікрочастинки зі світлом, де половина мікрочастинок найкраще апроксимується еквівалентною сферою меншого розміру, а половина мікрочастинок найкраще апроксимується еквівалентною сферою при вимірі із використанням відповідної оптичної методики. В ілюстративних варіантах здійснення мікрочастинки характеризуються еквівалентним оптичним середньооб'ємним діаметром (oVMD) від близько 0,5 мкм до близько 6 мкм, або від близько 1 мкм до близько 5 мкм, або від близько 1 мкм до близько 4 мкм, або від близько 2 мкм до близько 4,5 мкм, або від близько 2,5 мкм до близько 4 мкм, або від близько 2 мкм до близько 4

мкм, або від близько 2 мкм до близько 3 мкм, або від близько 2 мкм до близько 3,5 мкм, або близько 1 мкм, близько 1,5 мкм, близько 2 мкм, близько 2,5 мкм, близько 3 мкм, близько 3,5 мкм, близько 4 мкм, близько 4,5 мкм, або близько 5 мкм. Як описано у даному документі, висока щільність спресованої нерасфасованого речовини дозволяє доставляти більшу кількість активного засобу, використовуючи той же об'єм доставки. Для доставки певних біологічних засобів може знадобитися корисне навантаження до 50 мг/доза або вище для ефективного лікування. Як ілюстративно зображено на Фіг. 8В, комбінація лейцину та трилейцину може призводити до отримання сухого порошкоподібного складу, який характеризується більш високою щільністю нерасфасованого речовини, та, отже, при однаковій вазі наповнювача займає істотно менший об'єм.

Ілюстративні склади платформ, зображені на Фіг. 8В, представлені нижче. LTC вказує на склад без трилейцину (TLeu), але такий, що містить лейцин, трегалозу та цитратний буфер; TTC вказує на склад без лейцину (Leu), але такий, що містить трилейцин, трегалозу та цитратний буфер; TLTC вказує на включення як лейцину, так і трилейцину, а також трегалози та цитратного буфера. Cit відноситься до цитратного буфера. Tre відноситься до трегалози.

Таблиця 1

Ілюстративні склади платформ

Платформа	% Tre	% Leu	% TLeu	% Cit
LTC	46	45	0	9
TTC	81	0	11,2	7,8
TLTC	79	10,5	2	8,5

Капсули (капсули розміру 3) кожного складу зображені з відповідною вагою наповнення на Фіг. 8В. Як проілюстровано, для складу TLTC комбінація трилейцину та лейцину дозволяє заповнити капсулу 100 мг сухого порошкоподібного складу, зберігаючи при цьому деякий простір, що залишився у капсулі. Інші склади не могли бути наповнені вагою наповнювача вище близько 70-80 мг. Це являє собою значне поліпшення, що забезпечується застосуванням лейцину та трилейцину у комбінації для отримання складу із високою щільністю спресованої нерасфасованої речовини, що дозволяє отримати велику вагу наповнення.

Як описано у даному документі, застосування лейцину та трилейцину у сухих порошкоподібних складах також призводить до отримання мікрочастинок, що характеризуються необхідними розмірами (MMAD), а також необхідної площі поверхні (SSA) та шорсткості, що призводить до отримання мікрочастинок, які можуть належним чином переміщатися та доставлятися у легені за допомогою різних інгаляційних платформ.

Питома площа поверхні (SSA) мікрочастинок визначається як загальна площа поверхні мікрочастинок на одиницю маси (переважно в одиницях м²/г). Способи вимірювання SSA відомі із рівня техніки та включають, наприклад, вимірювання Брунауера-Емета-Телера (BET) із використанням оцінки питомої поверхні поглинання матеріалів азоту, що вимірюється в залежності від відносного тиску. Площа поверхні визначається за допомогою розрахунку кількості адсорбованого газу, що відповідає мономолекулярному шару на поверхні мікрочастинок. Методика сприяє виміру зовнішньої площі та будь-яких оцінок площі пір для визначення загальної питомої площі поверхні. Прилади вимірювання BET відомі із рівня техніки.

У варіантах здійснення питома площа поверхні (SSA) мікрочастинок сухого порошкоподібного складу становить від близько 3 м²/г до близько 8 м²/г. У відповідних варіантах здійснення SSA безлічі мікрочастинок становить близько 3,5 м²/г-7,5 м²/г, або близько 4 м²/г-7 м²/г, або близько 4,5 м²/г-7 м²/г, або близько 5 м²/г-7 м²/г, або близько 4,5 м²/г-6 м²/г, або близько 5 м²/г-6 м²/г, або близько 4 м²/г, близько 4,5 м²/г, близько 5 м²/г, близько 5,5 м²/г, близько 6 м²/г, близько 6,5 м²/г або близько 7 м²/г.

На Фіг. 9 зображені результати вимірювання питомої площі поверхні із застосуванням BET, у м²/г. Кожен стовпець на Фіг. 9 представляє різну кількість трилейцину у складах. У кожній колонці кількість лейцину підвищується від близько 1 % до близько 20 %. Мікрофотографії на вставках демонструють фізичний вигляд мікрочастинок при низькому значенні SSA (знизу ліворуч) та при більш високому значенні SSA (зверху праворуч). Як показано, при більш низькому ваг. % трилейцину значення SSA залишається нижче приблизно 5 м²/г, але підвищується при підвищенні вмісту лейцину. При вмісті трилейцину вище близько 2 % значення SSA підвищується до більш ніж 3,0 м²/г, а також підвищується по мірі підвищення відсотка лейцину. Значення SSA, що становлять вище 5,5 м²/г, та наближаються до 7,0 м²/г, досягаються при кількостях трилейцину, що становлять вище 4 %. Необхідний діапазон питомої площі поверхні, що становить близько 4-7 м²/г, може бути легко досягнутий із застосуванням близько 1-6 % трилейцину та кількості лейцину, що становить близько 1-20 %. Як показано, при застосуванні кількості трилейцину, що становить нижче близько 6 %, кількість лейцину може

становити нижче 10 %, навіть нижче 5 %, та при цьому підтримуються необхідне значення SSA та мікрочастинки з шорсткістю поверхні. На мікрофотографії у лівому верхньому куті зображена форма мікрочастинок сухих порошкоподібних складів, описаних у даному документі, що демонструє необхідний розмір, питому площу поверхні та шорсткість поверхні. У певних варіантах здійснення сухий порошкоподібний склад характеризується щільністю спресованої нерозфасованої речовини, що становить близько 0,4-1,0 г/см³. Прийнятніше щільність спресованої нерозфасованої речовини сухого порошкоподібного складу становить близько 0,5-0,8 г/см³. У варіантах здійснення щільність спресованої нерозфасованої речовини сухого порошкоподібного складу, описаного у даному документі, становить близько 0,4-0,9 г/см³, близько 0,4-0,8 г/см³, близько 0,5-0,8 г/см³, близько 0,6-0,8 г/см³ або близько 0,4 г/см³, близько 0,5 г/см³, близько 0,6 г/см³, близько 0,7 г/см³ або близько 0,8 г/см³. У деяких варіантах здійснення щільність спресованої нерасфасованої речовини сухого порошкоподібного складу, описаного у даному документі, становить від близько 0,4 г/см³ до близько 0,9 г/см³. У деяких варіантах здійснення щільність спресованої нерасфасованої речовини сухого порошкоподібного складу, описаного у даному документі, становить від близько 0,5 г/см³ до близько 0,8 г/см³.

Сухі порошкоподібні склади прийнятніше містять стабілізатор скла, як описано у даному документі, у тому числі аморфний сахарид або буфер, або застосовується як аморфний сахарид, так і буфер. Ілюстративні аморфні сахариди містять сахариди, описані у даному документі, у тому числі трегалозу, сахарозу, рафінозу, інулін, декстран та циклодекстрин. Прийнятніше аморфний сахарид присутній у кількості від близько 30 % до близько 70 %, та у варіантах здійснення являє собою трегалозу, прийнятніше присутню у кількості близько 35 %-60, або 35 %-55 %.

Ілюстративні буфери для застосування у сухих порошкоподібних складах описані у даному документі та включають цитратний буфер, фосфатний буфер та тартратний буфер. Прийнятніше буфер присутній у кількості від близько 1 % до близько 10 %, та у варіантах здійснення являє собою цитратний буфер. У певних варіантах здійснення pH цитратного буфера становить від близько pH 5,5 до близько pH 6,5, наприклад, близько pH 5,5, близько pH 5,6, близько pH 5,7, близько pH 5,8, близько pH 5,9, близько pH 6,0, близько pH 6,1, близько pH 6,2, близько pH 6,3, близько pH 6,4 або близько pH 6,5. У певних варіантах здійснення pH цитратного буфера становить близько pH 6,4.

У певних варіантах здійснення сухі порошкоподібні склади, описані у даному документі, містять поверхнево-активну речовину. Як зазначено у даному документі, "поверхнево-активна речовина" відноситься до молекули або сполуки, яка зменшує агрегацію частинок, адгезію частинок до поверхні капсули, стінок контейнера або компонентів клапана інгаляційного пристрою доставки. Також було виявлено, що поверхнево-активна речовина знижує утворення невидимих неозброєним оком частинок (SVP) під час розведення складу. Видалення SVP або зниження їхнього утворення спрощує аналітичну характеристику складу, оскільки усуває необхідність відстеження утворення SVP під час виготовлення. Аналітична характеристика SVP може включати розробку ортогональних методик для ідентифікації та кількісного визначення SVP з метою контролю якості. Таким чином, видалення SVP або їх зниження до прийнятних рівнів усуває необхідність цього етапу характеристики із виробничого процесу, оптимізуючи виробництво. Видалення SVP також може зробити діапазон доз прогнозованим, оскільки кінетика вивільнення лікарського засобу із SVP є невідомою. Крім того, видалення SVP, ймовірно, призведе до підвищення кількості активного засобу, доступного для включення у фармакологічну активність після розведення, що може означати не тільки те, що може бути досягнута більша доза, що доставляється, але і може бути розрахований більш точний прогноз доставленої дози. Більш висока доза може також принести користь пацієнту, наприклад, у результаті потенційного зниження кількості або частоти доз, які повинні бути доставлені для отримання фармакологічної користі.

"Невидима неозброєним оком частинка" ("SVP") являє собою невидиму неозброєним оком частинку розміром від близько 1 мкм до близько 200 мкм. Присутність невидимих неозброєним оком частинок можна визначити шляхом розведення сухого порошкоподібного складу та рідини, що характеризується каламутною якістю. Фактичне визначення наявності SVP може бути підтверджено за допомогою такої методики як візуалізація мікропотуку. Візуалізація мікропотуку (або MFI) поєднує мікрофлюїдну проточну мікроскопію та аналіз частинок із візуалізацією високої роздільної здатності для кількісної оцінки кількості SVP. MFI може групувати ці значення у діапазоні розмірів частинок, наприклад, групуючи значення частинок у діапазоні розмірів від близько 1 до близько 200 мкм, від близько 2 мкм до близько 200 мкм, від близько 5 мкм до близько 200 мкм, від близько 10 мкм до близько 200 мкм та від близько 25 мкм до близько 200 мкм. Приклади показують, що включення поверхнево-активної речовини до сухого порошкоподібного складу знижує присутність SVP у кожному діапазоні розмірів частинок порівняно із контрольним складом, в якому поверхнево-активна речовина відсутня (наприклад, Фіг. 15A). Таким чином, у певних варіантах здійснення сухий порошкоподібний склад, розкритий у даному документі, містить поверхнево-активну речовину, при цьому після розведення кількість невидимих неозброєним оком частинок у складі знижується. У деяких варіантах здійснення кількість невидимих неозброєним оком частинок знижено порівняно з еквівалентним

У певних варіантах здійснення кількість SVP розміром від близько 1 мкм до близько 200 мкм знижується більш ніж у 2 рази, наприклад, більш ніж у 3 рази, більш ніж у 4 рази, більш ніж у 5 разів, більш ніж у 6 разів, більш ніж у 7 разів, більш ніж у 8 разів або більш ніж у 9 разів при розведенні порівняно з еталонним контролем. У певних варіантах здійснення кількість SVP розміром від близько 1 мкм до близько 200 мкм знижується більш ніж в 10 разів при розведенні порівняно з еталонним контролем.

У певних варіантах здійснення еталонний контроль являє собою еквівалентний склад без поверхнево-активної речовини. У деяких варіантах здійснення, склад розводять у воді. У деяких варіантах здійснення, склад розводять до концентрації активного засобу, що становить 30 мг/мл. У деяких варіантах здійснення, склад розводять до концентрації активного засобу, що становить 2,5 мг/мл. У деяких варіантах здійснення, кількість SVP визначають за допомогою візуалізації мікропотоків (MFI). У певних варіантах здійснення кількість SVP визначають за допомогою візуалізації мікропотоків (MFI) із застосуванням способу, як визначено у прикладах.

Ілюстративні поверхнево-активні речовини, придатні для застосування у сухих порошкоподібних складах, описаних у даному документі, включають без обмеження полісорбат-20 (PS-20), полісорбат-40 (PS-40), полісорбат-60 (PS-60), полісорбат-80 (PS-80) та полоксамер-188. У певних варіантах здійснення складу, описані у даному документі, містять PS-80, прийнятніше у концентрації у діапазоні від близько 0,27 % за вагою до близько 2,7 % за вагою, прийнятніше від 0,27 % за вагою до 1,33 % за вагою, прийнятніше від близько 0,67 % за вагою до близько 1,33 % за вагою. У певних варіантах здійснення склад містить PS-80 у концентрації у діапазоні від близько 0,3 % за вагою до близько 3 % за вагою. У певних варіантах здійснення склад містить PS-80 у концентрації у діапазоні від близько 0,3 % за вагою до близько 2,5 % за вагою. У певних варіантах здійснення склад містить PS-80 у концентрації у діапазоні від близько 0,5 % за вагою до близько 2,5 % за вагою. У певних варіантах здійснення склад містить PS-80 у концентрації у діапазоні від близько 0,5 % за вагою до близько 2 % за вагою. У певних варіантах здійснення склад містить PS-80 у концентрації у діапазоні від близько 0,5 % за вагою до близько 1,5 % за вагою.

В ілюстративних варіантах здійснення склад містить PS-80 у концентрації у діапазоні від близько 0,67 % до близько 1,33 %.

В ілюстративних варіантах здійснення склад містить PS-80 у концентрації близько 0,7 % (ваг./ваг.), близько 0,8 % (ваг./ваг.), близько 0,9 % (ваг./ваг.), близько 1,0 % (ваг./ваг.), близько 1,1 % (ваг./ваг.), близько 1,2 % (ваг./ваг.) або близько 1,3 % (ваг./ваг.). У деяких варіантах здійснення склад містить PS-80 у концентрації близько 1,1 % (ваг./ваг.).

В ілюстративних варіантах здійснення композиція містить PS-80 у концентрації близько 0,7 % $\pm$ 0,35 (ваг./ваг.), близько 0,8 % $\pm$ 0,4 (ваг./ваг.), близько 0,9 % $\pm$ 0,45 (ваг./ваг.), близько 1,0 % $\pm$ 0,5 (ваг./ваг.), близько 1,1 % $\pm$ 0,55 (ваг./ваг.), близько 1,2 % $\pm$ 0,6 (ваг./ваг.), близько 1,3 % $\pm$ 0,65 (ваг./ваг.), близько 1,4 % $\pm$ 0,7 (ваг./ваг.), близько 1,5 % $\pm$ 0,75 (ваг./ваг.), близько 1,6 % $\pm$ 0,8 (ваг./ваг.) або близько 1,7 % $\pm$ 0,75 (ваг./ваг.). У деяких варіантах здійснення склад містить PS-80 у концентрації 1,1 % $\pm$ 0,55 (ваг./ваг.).

У певних варіантах здійснення склад, описаний у даному документі, містить полоксамер-188, прийнятніше у концентрації у діапазоні від близько 1 % за вагою до близько 10 % за вагою. В ілюстративних варіантах здійснення склад містить полоксамер-188 (P188) у концентрації у діапазоні від близько 0,67 % до близько 2,67 %. У певних варіантах здійснення склад містить P188 у концентрації у діапазоні від близько 0,3 % за вагою до близько 3 % за вагою. У певних варіантах здійснення склад містить P188 у концентрації у діапазоні від близько 0,3 % за вагою до близько 2,5 % за вагою. У певних варіантах здійснення склад містить P188 у концентрації у діапазоні від близько 0,5 % за вагою до близько 2,5 % за вагою. У певних варіантах здійснення склад містить P188 у концентрації у діапазоні від близько 0,5 % за вагою до близько 2 % за вагою. У певних варіантах здійснення склад містить P188 у концентрації у діапазоні від близько 0,5 % за вагою до близько 1,5 % за вагою.

В ілюстративних варіантах здійснення склад містить P188 у концентрації у діапазоні від близько 0,67 % до близько 1,67 %.

В ілюстративних варіантах здійснення склад містить P188 у концентрації близько 0,7 % (ваг./ваг.), близько 0,8 % (ваг./ваг.), близько 0,9 % (ваг./ваг.), близько 1,0 % (ваг./ваг.), близько 1,1 % (ваг./ваг.), близько 1,2 % (ваг./ваг.), близько 1,3 % (ваг./ваг.), близько 1,4 % (ваг./ваг.), близько 1,5 % (ваг./ваг.), близько 1,6 % (ваг./ваг.) або близько 1,7 % (ваг./ваг.).

В ілюстративних варіантах здійснення сухі порошкоподібні складу містять близько 39 % трегалози, близько 10,5 % лейцину, близько 2 % трилейцину, близько 8,5 % цитратного буфера, та активний засіб. Відповідні розміри мікрочастинок сухих порошкоподібних складів описані у даному документі, та у варіантах здійснення безліч мікрочастинок характеризуються медіанним масовим аеродинамічним діаметром (MMAD) від близько 2 до близько 4 мкм при отриманні в аерозольній формі. Відповідні питомі площі поверхні (SSA) мікрочастинок описані у даному документі та включають, наприклад, питому площу поверхні, що становить близько 4-7 м²/г. Прийнятніше мікрочастинок характеризуються

еквівалентним оптичним середньооб'ємним діаметром (oVMD) від близько 1 до близько 5 мкм.

У додаткових варіантах здійснення у даному документі запропоновано спосіб отримання сухого порошкоподібного складу. У варіантах здійснення спосіб прийнятніше включає отримання рідкої вихідної сировини, що містить лейцин, від близько 0,1 мг/мл до 6 мг/мл трилейцину, активний засіб та прийнятніше додатково містить засіб для стабілізації скла. Стабілізатор скла, як описано у даному документі, може бути виключений із сухих порошкоподібних складів, за необхідності. Рідка вихідна сировина може також містити поверхнево-активну речовину. Рідку вихідну сировину отримують за допомогою об'єднання цих компонентів у рідкому розчиннику з отриманням вихідної сировини, в якій розчинений кожен із компонентів. Нагрівання може бути додано при необхідності або потребуватися підвищення розчинності різних компонентів із утворенням рідкої вихідної сировини. Ілюстративні рідкі розчинники включають воду, у тому числі деіонізовану воду, а також розчини спиртів, що розбавляються водою. У варіантах здійснення активний засіб прийнятніше додають до рідкої вихідної сировини після додавання та розчинення інших компонентів вихідної сировини.

У відповідних варіантах здійснення способів отримання лейцин та трилейцин присутні у співвідношенні концентрацій лейцин:трилейцин, що становить від близько 0,1:1 до близько 30:1 у рідкій вихідній сировині. Як описано у даному документі, при отриманні рідкої вихідної сировини лейцин та трилейцин представляють у вигляді кількостей у мг/мл. Таким чином, у таких варіантах здійснення співвідношення концентрацій лейцин:трилейцин, що становить від близько 0,1:1 до близько 30:1, у заданому об'ємі рідкої вихідної сировини відповідає співвідношенню лейцин:трилейцин за вагою у рідкій вихідній сировині. У додаткових варіантах здійснення лейцин та трилейцин присутні у співвідношенні концентрацій лейцин:трилейцин від близько 0,1:1 до близько 25:1, від близько 0,5:1 до близько 20:1, від близько 1:1 до близько 20:1, від близько 1:1 до близько 15:1, від близько 1:1 до близько 12:1, від близько 1:1 до близько 10:1, від близько 1:1 до близько 7:1, від близько 1:1 до близько 6:1, або близько 1:1, близько 2:1, близько 3:1, близько 4:1, близько 5:1, близько 5,1:1, близько 5,2:1, близько 5,25:1, близько 5,3:1, близько 5,4:1, близько 5,5:1, близько 5,75:1 або близько 6:1 у рідкій вихідній сировині.

Потім рідка вихідна сировина може бути розпилена. У певних варіантах здійснення рідку вихідну сировину фільтрують перед розпиленням. У певних варіантах здійснення рідку вихідну сировину фільтрують через фільтр із діаметром пор 0,22 мікрон. У певних варіантах здійснення рідка вихідна сировина, що містить лейцин та трилейцин, фільтрують перед додаванням активного засобу. У певних варіантах здійснення рідку вихідну сировину фільтрують після додавання активного засобу перед розпиленням. Розпилення відноситься до перетворення рідкої вихідної сировини у дрібні краплі, прийнятніше із використанням стисненого газу (такого як CO₂ або інертний газ). Ілюстративні пристрої для отримання розпиленої рідкої вихідної сировини відомі із рівня техніки та включають застосування різних розпилювальних форсунок, які характеризуються необхідними розмірами та характеристиками потоку. Ілюстративні параметри розпилення включають температуру на виході, що становить близько 50 °C-90 °C, прийнятніше близько 60 °C-80 °C або близько 70 °C; швидкість подачі вихідної сировини, що становить близько 8-15 мл/хв., прийнятніше близько 9-14 мл/хв., близько 10-13 мл/хв. або близько 12 мл/хв.; швидкість потоку газу розпилювача, що становить близько 9-15 кг/година (годину або год.), прийнятніше близько 10-14 кг/год., близько 12-14 кг/год. або близько 13 кг/год.; та швидкість потоку газу-осушувача, що становить близько 60-100 кг/год., прийнятніше близько 60-90 кг/год., близько 70-90 кг/год. або близько 80 кг/год. Потім розпилену рідку вихідну сировину може бути висушено, прийнятніше при нагріванні та у поєднанні з потоком повітря для полегшення сушіння. У результаті сушіння отримують безліч мікрочастинок. Температура сушіння зазвичай знаходиться у діапазоні близько 50 °C-100 °C, або близько 60°C-100 °C, або близько 70 °C-90 °C; швидкість потоку повітря може становити близько 10-40 м³/година. Ілюстративні засоби для стабілізації скла, у тому числі аморфні сахариди та буфери, описані у даному документі, як і відповідні кількості засобів для стабілізації скла. Відповідні кількості лейцину та трилейцину також представлені у всьому описі. Зрештою сухий порошкоподібний склад повинен містити зазначені кількості лейцину та трилейцину (та інших компонентів), такі кількості також використовуються у рідкій вихідній сировині. Результатом процесу сушіння після розпилення є видалення будь-якого рідкого розчинника, та, таким чином, повна кількість вихідної сухої ваги компонентів відповідає кінцевій сухій вазі сполук у сухому порошкоподібному складі. Ілюстративні активні засоби також описані у даному документі. Способи отримання сухих порошкоподібних складів, описані у даному документі, прийнятніше включають отримання мікрочастинок, що характеризуються зазначеними необхідними фізичними характеристиками, у тому числі необхідну щільність спресованої нерозфасованої речовини, питому площу поверхні та розміри. Ілюстративні розміри описані у даному документі, як і ілюстративні SSA, у тому числі питома площа поверхні, що становить менше ніж 10 м²/г, прийнятніше близько 4-7 м²/г. Прийнятніше способи включають отримання безлічі мікрочастинок, що характеризуються еквівалентним оптичним середньооб'ємним діаметром (oVMD) від близько 1 мкм до близько 5 мкм, як описано у даному документі; медіанним масовим аеродинамічним діаметром (MMAD) від близько 2 мкм до близько 4 мкм, коли вони представлені в аерозольній формі; щільністю спресованої

нерозфасованої речовини від близько 0,4 г/см³ до 0,8 г/см³.

Перевага способів отримання сухих порошкоподібних складів, описаних у даному документі, пов'язана із високим виходом способу. Наприклад, якщо швидкість розпилення встановлена рівні 20 мл/хв., було визначено наступний вихід у г/година.

Таблиця 2

Вплив концентрації на вихід

Вміст лейцину	Вміст трилейцину	Максимальне завантаження твердих частинок (мг/мл) (максимальна розчинність обмежена)	Вихід (г/год.) (при швидкості потоку при LIQ способу, що становить 20 мл/хв.)
	20,0 %	25	30
60,0 %		33	40
45,0 %		44	53
	10,0 %	50	60
30,0 %		67	80
10,5 %	2,0 %	190	229
10,0 %	2,5 %	200	240
8,0 %	2,0 %	250	300

Як зазначено вище, із використанням у вихідній сировині тільки трилейцину із максимальною концентрацією трилейцину, що становить 5 мг/мл, було досягнуто максимального завантаження твердих частинок, що становить 25 мг/мл (відносно максимальної розчинності). Це призводить до виходу, що становить 30 г/година. При використанні тільки лейцину у концентрації 60 %, з максимальною концентрацією лейцину, що становить 20 мг/мл, було досягнуто максимального завантаження твердих частинок, що становить 33 мг/мл, та вихід, що становить 40 г/година. Також показані додаткові результати при використанні тільки лейцину та трилейцину. На відміну від цього, для трьох досліджених видів вихідної сировини, які містили як лейцин, так і трилейцин, максимальне завантаження твердих речовин становило 250 мг/мл, а продуктивність, що становить 300 г/година, була досягнута тільки із використанням 8 % лейцину та 2 % трилейцину. Це являло собою незвичайний та несподіваний результат переваг способів та складів, розкритих у даному документі, в тому, що частинка, що диспергується, може бути отримана із використанням відносно невеликих кількостей лейцину та трилейцину, але також допускається великий вихід. Такий високий вихід значно впливає на можливість масштабування виробництва сухих порошкоподібних складів, описаних у даному документі, коли потрібні великі кількості складів.

Способи та склади, описані у даному документі, дозволяють отримувати капсули, блістерні упаковки і т. д., а також інші відповідні контейнери для сухих порошкоподібних складів. Такі контейнери можуть бути виготовлені із 10-200 мг сухого порошку, прийнятніше 10-100 мг або 25-75 мг, або 50 мг сухого порошкоподібного складу. Такі контейнери можуть прийнятніше доставляти 0,1-10 мг сухого порошкоподібного складу у легені пацієнта.

В деяких варіантах здійснення застосування способів, описаних у даному документі, дозволяє отримати сухі порошкоподібні склади, які можуть зменшити загальну кількість капсул, необхідних для інгаляційного пристрою. Наприклад, об'єм, необхідний для доставки 50-100 мг активного засобу, може бути зменшений із двох великих капсул розміру 00 до однієї капсули розміру 3.

Способи, описані у даному документі, також включають механізм підвищення щільності спресованої нерозфасованої речовини та питомої площі поверхні сухого порошкоподібного складу, що містить безліч мікрочастинок. Як описано у всьому описі, при включенні лейцину та трилейцину у сухий порошкоподібний склад може бути легко досягнута щільність спресованої нерозфасованої речовини, що становить близько 0,4-1,0 г/см³ (прийнятніше близько 0,5-0,8 г/см³). Крім того, також може бути досягнута питома площа поверхні, що становить близько 5-10 м²/г (прийнятніше від близько 5 м²/г до близько 7 м²/г). У додаткових варіантах здійснення розміри мікрочастинок можуть бути сформовані в діапазонах, описаних у даному документі, у тому числі мікрочастинок із медіанним масовим аеродинамічним діаметром (MMAD) від близько 2 мкм до близько 4 мкм при отриманні в аерозольній формі.

Способи отримання аерозольної форми сухого порошкоподібного складу відомі із рівня техніки та включають, наприклад, застосування інгаляційних пристроїв, таких як інгалятор для сухого порошку (DPI) (наприклад, Monodose RS01 DPI від PLASTIAPE (Osnago, Італія)). Сухі порошкоподібні склади, описані у даному документі, можуть розподілятися у потоці газу за допомогою або пасивного або активного інгаляційного пристрою та залишатися у зваженому стані у газі протягом часу, достатнього

для того, щоб пацієнт вдихнув щонайменше частину мікрочастинок так, щоб частина мікрочастинок досягла легень. У даному документі також представлені способи лікування медичного стану у пацієнта-смавця, які включають введення пацієнту за допомогою інгаляції (у тому числі за допомогою інгалятора для сухого порошку) складів сухого порошку, як описано у даному документі.

Медичні стани, які можна лікувати із застосуванням способів, описаних у даному документі, включають медичні стани, що впливають на нервову систему, ендокринну систему, м'язову систему, серцево-судинну систему, травну систему, дихальну систему (і, зокрема, легені), гормональні системи, імунну систему, репродуктивну систему і т. д.

У варіантах здійснення, представлених у даному документі, представлений спосіб лікування запального стану, пов'язаного із TSLP, у пацієнта. Запальні стани, пов'язані із TSLP, можуть бути викликані алергічними реакціями або подразниками або стимуляторами навколишнього середовища. У деяких варіантах здійснення запальний стан, пов'язаний із TSLP, може являти собою бронхіальну астму, хронічну обструктивну хворобу легень, алергічний риніт, алергічний риносинусит, алергічний кон'юнктивіт, атопічний дерматит або еозинофільний езофагіт.

У деяких варіантах здійснення запальний стан, пов'язаний із TSLP, являє собою бронхіальну астму, та зазначений спосіб лікування включає введення пацієнту за допомогою інгаляції сухого порошкоподібного складу, що містить терапевтично ефективну кількість антитіла до TSLP або варіанта фрагмента антитіла. У певних варіантах здійснення пацієнт являє собою людину. У певних варіантах здійснення пацієнт являє собою дитину або підлітка.

Як описано у даному документі, прийнятніше сухий порошкоподібний склад містить безліч мікрочастинок, при цьому мікрочастинки містять: лейцин; від близько 1 % до близько 10 % трилейцину за вагою; та антитіло до тимічного стромального лімфопоетину (антитіло до TSLP) або варіант антитіла, при цьому лейцин та трилейцин присутні при співвідношенні концентрацій лейцин:трилейцин від близько 0,1:1 до близько 30:1. Сухий порошкоподібний склад може характеризуватися щільністю спресованої нерозфасованої речовини, що становить близько 0,3-1,0 г/см³. Ілюстративні компоненти для включення до складу та їх кількості описані у всьому документі.

Як описано у даному документі, здатність доставляти антитіло до тимічного стромального лімфопоетину (антитіло до TSLP) або варіант антитіла за допомогою інгаляції включає механізм доставки, більш зручний для застосування у первинній системі охорони здоров'я.

У варіантах здійснення способів лікування бронхіальної астми сухий порошкоподібний склад часто вводять у більш низьких дозах, ніж лікарський препарат, що системно вводиться, спрямований проти TSLP. У деяких варіантах здійснення склад можна вводити щодня. Такі варіанти здійснення можуть бути зручнішими для суб'єкта або пацієнта. Крім того, такі варіанти здійснення можуть зменшити побічні ефекти, що можуть виникати при системному введенні.

Відповідно, антигензв'язуючий фрагмент антитіла для застосування у способах лікування містить варіабельний домен важкого ланцюга, що містить:

послідовність CDR1 важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність, представлену у SEQ ID NO: 1;

послідовність CDR2 важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність, представлену у SEQ ID NO: 2;

послідовність CDR3 важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність, представлену у SEQ ID NO: 3;

та варіабельний домен легкого ланцюга, що містить:

послідовність CDR1 легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність, представлену у SEQ ID NO: 5;

послідовність CDR2 легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність, представлену у SEQ ID NO: 6; та

послідовність CDR3 легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність, представлену у SEQ ID NO: 7.

У додаткових варіантах здійснення способів лікування антигензв'язуючий фрагмент містить варіабельний домен важкого ланцюга, що містить SEQ ID NO: 4; та варіабельний домен легкого ланцюга, що містить SEQ ID NO: 8.

У деяких варіантах здійснення форми бронхіальної астми, що піддаються лікуванню за допомогою складу за даним винаходом, включають бронхіальну астму легкого ступеня тяжкості, бронхіальну астму помірного ступеня тяжкості, бронхіальну астму важкого ступеня тяжкості, неоеозинофільну бронхіальну астму, низькоеозинофільну бронхіальну астму та високоеозинофільну бронхіальну астму. У певних варіантах здійснення складу за даним винаходом можуть бути призначені для застосування у лікуванні бронхіальної астми легкого ступеня тяжкості. У певних варіантах здійснення складу за даним винаходом можуть бути призначені для застосування у лікуванні бронхіальної астми помірного ступеня тяжкості. У певних варіантах здійснення складу за даним винаходом можуть бути призначені для застосування у лікуванні бронхіальної астми важкого ступеня тяжкості. У певних варіантах здійснення складу за даним винаходом можуть бути призначені для застосування у лікуванні

нееозинофільної бронхіальної астми. У певних варіантах здійснення складу за даним винаходом можуть бути призначені для застосування в лікуванні низькоеозинофільної бронхіальної астми. У певних варіантах здійснення складу за даним винаходом можуть бути призначені для застосування в лікуванні виськоеозинофільної бронхіальної астми. Терміни "бронхіальна астма легкого ступеня тяжкості" та "бронхіальна астма помірного ступеня тяжкості", що використовуються у даному документі, відносяться до бронхіальної астми, яка характеризується показником за шкалою Глобальної ініціативи з бронхіальної астми (GINA), що становить 3 або менше, прийнятніше показником за шкалою GINA, що становить 2 або 3. Шкала GINA вимірює тяжкість бронхіальної астми на основі наступних критеріїв (див. "Pocket Guide for Asthma Management and Prevention," Global Initiative for Asthma; 2019).

Термін "бронхіальна астма важкого ступеня тяжкості", що використовується у даному документі, відноситься до бронхіальної астми, яка вимагає високоінтенсивного лікування (наприклад, етапи 4 та 5 за GINA) для підтримки високого контролю або якщо високий контроль не досягається, незважаючи на високоінтенсивне лікування (GINA, Global Strategy for Asthma Management and Prevention. Global Initiative for Asthma (GINA) December 2012). Термін "бронхіальна астма тяжкого ступеня тяжкості" також охоплює бронхіальну астму помірного або тяжкого ступеня тяжкості. Особи із бронхіальною астмою помірного або тяжкого ступеня тяжкості, які підходять для лікування складами, описаними у даному документі, можуть являти собою осіб, які характеризуються відсутністю контролю при введенні середньої або високої дози ICS:LABA з одним або декількома загостреннями та частими симптомами. У певних варіантах здійснення бронхіальна астма тяжкого ступеня тяжкості додатково визначається як бронхіальна астма тяжкого ступеня тяжкості із запаленням 2 типу, що характеризується підвищеним рівнем еозинофілів у крові (тобто число еозинофілів у крові ≥ 150 клітин/мкл) та/або підвищеним рівнем FeNO (тобто $\text{FeNO} \geq 20$ ppb).

Термін "FENO" відноситься до фракційного оксиду азоту, що видихається, який являє собою біомаркер запалення бронхів або дихальних шляхів. FENO продукується епітеліальними клітинами дихальних шляхів у відповідь на запальні цитокіни, такі як TSLP, IL-4 та IL-13. Рівні FENO у здорових дорослих знаходяться у діапазоні від 2 до 30 частин на мільярд (ppb). Ілюстративний аналіз для вимірювання FENO включає вдихання суб'єктами до повної ємності легень через монітор запалення дихальних шляхів NIOX MINO®, а потім видихання протягом 10 секунд зі швидкістю 50 мл/сек (за допомогою візуальних та слухових сигналів).

Термін "виськоеозинофільна бронхіальна астма", як використовується у даному документі, відноситься до пацієнта із бронхіальною астмою, у якого є вміст еозинофілів у крові при скринінгу ≥ 250 клітин/мкл.

Зокрема, складу забезпечують можливість лікування пацієнтів із бронхіальною астмою менш тяжкого ступеня тяжкості, яких зазвичай лікують у первинній системі охорони здоров'я. Наприклад, пацієнтів із показником за шкалою Глобальної ініціативи з бронхіальної астми (GINA), що становить 3 або менше, прийнятніше із показником за шкалою GINA, що становить 2 або 3. Шкала GINA вимірює тяжкість бронхіальної астми на основі наступних критеріїв (див. "Pocket Guide for Asthma Management and Prevention," Global Initiative for Asthma; 2019):

- симптоми бронхіальної астми у денний час більше двох разів на тиждень;

- нічні пробудження у зв'язку із бронхіальною астмою;

- застосування засобу для полегшення бронхіальної астми понад два рази на тиждень; та

- обмеження активності у зв'язку із бронхіальною астмою. Нульовий бал за цими критеріями вважається "добре контрольованим". Бал 1-2 за цими критеріями вважається "частково контрольованим". Бал 3-4 за цими критеріями вважається "неконтрольованим".

У деяких варіантах здійснення складу забезпечують можливість лікування пацієнтів, які страждають на бронхіальну астму помірного або тяжкого ступеня тяжкості, яких можна лікувати у первинній системі охорони здоров'я, або для лікування пацієнтів, які страждають на бронхіальну астму помірного та тяжкого ступеня тяжкості з обмеженим доступом до лікування за допомогою спеціалізованої допомоги. Наприклад, складу можуть бути застосовні для лікування пацієнтів із бронхіальною астмою помірного або тяжкого ступеня тяжкості із показником за шкалою Глобальної ініціативи з бронхіальної астми (GINA), що становить 4-5. Відповідно, складу забезпечують можливість лікування бронхіальної астми помірного та тяжкого ступеня тяжкості, яка є неконтрольованою. Відповідно, складу забезпечують можливість лікування бронхіальної астми помірного та тяжкого ступеня тяжкості, яка є неконтрольованою при введенні середньої або високої дози ICS:LABA з одним або декількома загостреннями та частими симптомами.

Додаткові ілюстративні варіанти здійснення

У варіанті здійснення 1 представлений сухий порошкоподібний склад, що містить безліч мікрочастинок, при цьому мікрочастинок містять: лейцин, від близько 1 % до близько 10 % трилейцину за вагою та антигензв'язуючий фрагмент антитіла до тимічного стромального лімфопоетину (TSLP), що містить: а. варіабельний домен важкого ланцюга, що містить послідовність CDR1 важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність, представлену у SEQ ID NO: 1, послідовність CDR2 важкого

ланцюга, що містить амінокислотну послідовність, представлену у SEQ ID NO: 2, та послідовність CDR3 важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність, представлену у SEQ ID NO: 3, при цьому будь-яка CDR1, 2 або 3 важкого ланцюга необов'язково містить одну амінокислотну заміну, та b. варіабельний домен легкого ланцюга містить послідовність CDR1 легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність, представлену у SEQ ID NO: 5, послідовність CDR2 легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність, представлену у SEQ ID NO: 6, та послідовність CDR3 легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність, представлену у SEQ ID NO: 7, при цьому будь-яка CDR 1, 2 або 3 легкого ланцюга необов'язково містить одну амінокислотну заміну, при цьому лейцин та трилейцин присутні у співвідношенні концентрацій лейцин:трилейцин, що становить від близько 0,1:1 до близько 30:1.

У варіанті здійснення 2 представлений сухий порошкоподібний склад за варіантом здійснення 1, при цьому зазначений сухий порошкоподібний склад характеризується щільністю спресованої нерозфасованої речовини, що становить близько 0,4-1,0 г/см³.

У варіанті здійснення 3 представлений сухий порошкоподібний склад за будь-яким із попередніх варіантів здійснення, що додатково містить засоби для стабілізації скла.

У варіанті здійснення 4 представлений сухий порошкоподібний склад за варіантом здійснення 3, при цьому зазначений стабілізатор скла являє собою аморфний сахарид або буфер.

У варіанті здійснення 5 представлений сухий порошкоподібний склад за варіантом здійснення 3, при цьому зазначений стабілізатор скла містить аморфний сахарид та буфер.

У варіанті здійснення 6 представлений сухий порошкоподібний склад за варіантом здійснення 4 або варіантом здійснення 5, при цьому зазначений аморфний сахарид обраний із групи, що складається із трегалози, сахарози, рафінози, інуліну, декстрану, маніту та циклодекстрину.

У варіанті здійснення 7 представлений сухий порошкоподібний склад за будь-яким із варіантів здійснення 4-6, при цьому зазначений буфер обраний із групи, що складається із цитратного буфера, фосфатного буфера, гістидинового буфера, гліцинового буфера, ацетатного буфера та тартратного буфера. У варіанті здійснення 8 представлений сухий порошкоподібний склад за будь-яким із варіантів здійснення 4-7, при цьому зазначений аморфний сахарид присутній у кількості від близько 30 % до близько 70 % за вагою.

У варіанті здійснення 9 представлений сухий порошкоподібний склад за будь-яким із варіантів здійснення 4-8, при цьому зазначений аморфний сахарид являє собою трегалозу.

У варіанті здійснення 10 представлений сухий порошкоподібний склад за варіантом здійснення 9, при цьому зазначена трегалоза присутня у кількості від близько 30 % до близько 65 % за вагою.

У варіанті здійснення 11 представлений сухий порошкоподібний склад за будь-яким із варіантів здійснення 4-10, при цьому зазначений буфер присутній у кількості від близько 1 % до близько 10 % за вагою.

У варіанті здійснення 12 представлений сухий порошкоподібний склад за будь-яким із варіантів здійснення 1-11, при цьому співвідношення концентрацій лейцин:трилейцин становить від близько 1:1 до 12:1.

У варіанті здійснення 13 представлений сухий порошкоподібний склад за будь-яким із варіантів здійснення 1-12, при цьому співвідношення концентрацій лейцин:трилейцин становить від близько 1:1 до 7:1.

У варіанті здійснення 14 представлений сухий порошкоподібний склад за будь-яким із варіантів здійснення 1-13, при цьому співвідношення концентрацій лейцин:трилейцин становить близько 5,25:1. У варіанті здійснення 15 представлений сухий порошкоподібний склад за будь-яким із варіантів здійснення 1-14, що містить від близько 1 % до близько 7 % трилейцину за вагою.

У варіанті здійснення 16 представлений сухий порошкоподібний склад за будь-яким із варіантів здійснення 1-15, що містить від близько 8 % до близько 11 % лейцину за вагою та від близько 2 % до близько 4 % трилейцину за вагою.

У варіанті здійснення 17 представлений сухий порошкоподібний склад за будь-яким із варіантів здійснення 1-16, що містить близько 10,5 % лейцину за вагою та близько 2 % трилейцину за вагою.

У варіанті здійснення 18 представлений сухий порошкоподібний склад за будь-яким із варіантів здійснення 1-17, що додатково містить поверхнево-активну речовину, при цьому поверхнево-активну речовину необов'язково вибрано із полісорбату-20 (PS-20), полісорбату-40 (PS-40), полісорбату-60 (PS-60), полісорбату-80 (PS-80) та полксамеру-188.

У варіанті здійснення 19 представлений сухий порошкоподібний склад за п. 18, при цьому зазначена поверхнево-активна речовина являє собою PS-80, при цьому необов'язково PS-80 присутній у концентрації у діапазоні від близько 0,27 % за вагою до близько 2,7 % за вагою.

У варіанті здійснення 20 представлений сухий порошкоподібний склад за п. 18, при цьому зазначена поверхнево-активна речовина являє собою полксамер-188, при цьому необов'язково полксамер-188 присутній у концентрації у діапазоні від близько 1 % до 10 % за вагою.

У варіанті здійснення 21 представлений сухий порошкоподібний склад за будь-яким із варіантів здійснення 1-20, при цьому безліч мікрочастинок характеризуються еквівалентним оптичним

середньооб'ємним діаметром (oVMD) від близько 1 мкм до близько 5 мкм.

У варіанті здійснення 22 представлений сухий порошкоподібний склад за будь-яким із варіантів здійснення 1-21, при цьому безліч мікрочастинок характеризуються масовим медіанним аеродинамічним діаметром (MMAD) від близько 2 мкм до близько 4 мкм, коли вони представлені в аерозольній формі. У варіанті здійснення 23 представлений сухий порошкоподібний склад за будь-яким із варіантів здійснення 2-22, при цьому щільність спресованої нерозфасованої речовини становить від близько 0,5 г/см³ до близько 0,8 г/см³.

У варіанті здійснення 24 представлений сухий порошкоподібний склад за будь-яким із варіантів здійснення 2-23, що містить близько 39 % трегалози, близько 10,5 % лейцину, близько 2 % трилейцину та близько 8,5 % цитратного буфера.

У варіанті здійснення 25 представлений сухий порошкоподібний склад за будь-яким із варіантів здійснення 1-24, при цьому безліч мікрочастинок характеризуються питомою площею поверхні, що становить менш ніж близько 10 м²/г.

У варіанті здійснення 26 представлений сухий порошкоподібний склад за варіантом здійснення 25, при цьому безліч мікрочастинок характеризуються питомою площею поверхні від близько 4 м²/г до близько 7 м²/г.

У варіанті здійснення 27 представлений сухий порошкоподібний склад за будь-яким із попередніх варіантів здійснення, при цьому зазначена CDR1 варіабельного домену важкого ланцюга містить амінокислотну послідовність, представлену у SEQ ID NO: 1, CDR2 варіабельного домену важкого ланцюга містить амінокислотну послідовність, представлену у SEQ ID NO: 2, CDR3 варіабельного домену важкого ланцюга містить амінокислотну послідовність, представлену у SEQ ID NO: 3, CDR1 варіабельного домену легкого ланцюга містить амінокислотну послідовність, представлену у SEQ ID NO: 5, CDR2 варіабельного домену легкого ланцюга містить амінокислотну послідовність, представлену у SEQ ID NO: 6, та CDR3 варіабельного домену легкого ланцюга містить амінокислотну послідовність, представлену у SEQ ID NO: 7. У варіанті здійснення 28 представлений сухий порошкоподібний склад варіанта здійснення 27, при цьому антигензв'язуючий фрагмент містить варіабельний домен важкого ланцюга, що містить SEQ ID NO: 4, та варіабельний домен легкого ланцюга, що містить SEQ ID NO: 8.

У варіанті здійснення 29 представлений сухий порошкоподібний склад за будь-яким із попередніх варіантів здійснення, при цьому вказаний антигензв'язуючий фрагмент обраний із Fab, Fab', F(ab')₂, scFv, мінітіла або діатіла.

У варіанті здійснення 30 представлений сухий порошкоподібний склад варіанта здійснення 29, при цьому зазначений антигензв'язуючий фрагмент являє собою Fab.

У варіанті здійснення 31 представлений сухий порошкоподібний склад варіанта здійснення 30, при цьому зазначений Fab є людським або гуманізованим.

У варіанті здійснення 32 представлений сухий порошкоподібний склад за будь-яким із попередніх варіантів здійснення, при цьому зазначене антитіло до TSLP, з якого отриманий антигензв'язуючий фрагмент, являє собою IgG1.

У варіанті здійснення 33 представлений спосіб лікування бронхіальної астми у пацієнта, що включає введення за допомогою інгаляції сухого порошкоподібного складу за будь-яким варіантом здійснення 1-29.

У варіанті здійснення 34 представлений спосіб варіанта здійснення 33, при цьому зазначена бронхіальна астма являє собою бронхіальну астму легкого ступеня тяжкості.

У варіанті здійснення 35 представлений спосіб варіанта здійснення 33, при цьому зазначена бронхіальна астма являє собою бронхіальну астму помірного ступеня тяжкості.

У варіанті здійснення 36 представлений спосіб варіанта здійснення 33, при цьому зазначена бронхіальна астма являє собою бронхіальну астму важкого ступеня тяжкості.

У варіанті здійснення 37 представлений спосіб варіанта здійснення 33, при цьому зазначена бронхіальна астма являє собою еозинофільну форму бронхіальної астми та нееозинофільну форму бронхіальної астми.

У варіанті здійснення 38 представлений спосіб варіанта здійснення 33, при цьому зазначена бронхіальна астма являє собою бронхіальну астму важкого ступеня тяжкості.

У варіанті здійснення 39 представлений спосіб за будь-яким із варіантів здійснення 33-38, при цьому бронхіальна астма характеризується менш ніж трьома з наступного: симптоми бронхіальної астми вдень більше двох разів на тиждень; нічні пробудження у зв'язку із бронхіальною астмою; застосування засобу для полегшення бронхіальної астми більш ніж двічі на тиждень; та обмеження активності у зв'язку із бронхіальною астмою.

У варіанті здійснення 40 представлений сухий порошкоподібний склад за будь-яким із варіантів здійснення 1-32 для застосування у способі лікування, який відрізняється тим, що зазначений склад підлягає введенню за допомогою інгаляції.

У варіанті здійснення 41 представлений сухий порошкоподібний склад варіанта здійснення 37 для застосування у способі лікування бронхіальної астми.

У варіанті здійснення 42 представлений сухий порошкоподібний склад варіанта здійснення 38, при цьому бронхіальна астма являє собою бронхіальну астму легкого ступеня тяжкості.

У варіанті здійснення 43 представлений сухий порошкоподібний склад варіанта здійснення 38, при цьому бронхіальна астма являє собою бронхіальну астму помірного ступеня тяжкості.

У варіанті здійснення 44 представлений сухий порошкоподібний склад варіанта здійснення 38, при цьому бронхіальна астма являє собою бронхіальну астму тяжкого ступеня тяжкості.

У варіанті здійснення 45 представлений сухий порошкоподібний склад за варіантом здійснення 38, при цьому бронхіальна астма являє собою еозинофільну форму бронхіальної астми або неоеозинофільну форму бронхіальної астми.

У варіанті здійснення 46 представлений сухий порошкоподібний склад за варіантом здійснення 38, при цьому бронхіальна астма являє собою низькоеозинофільну форму бронхіальної астми.

У варіанті здійснення 47 представлений сухий порошкоподібний склад за варіантом здійснення 38, при цьому бронхіальна астма характеризується менш ніж трьома з наступного: симптоми бронхіальної астми вдень більше двох разів на тиждень; нічні пробудження у зв'язку із бронхіальною астмою; застосування засобу для полегшення бронхіальної астми більш ніж двічі на тиждень; та обмеження активності у зв'язку із бронхіальною астмою.

ПРИКЛАДИ

ПРИКЛАД 1 - ОТРИМАННЯ FAB ДО TSLP

Серію зв'язуючих фрагментів антитіл (Fab), отриманих із моноклонального антитіла до TSLP "A5", розкритого у WO 2009/035577, яка включена у даний документ за допомогою посилання у повному обсязі, отримували із застосуванням стандартних методик молекулярної біології та клонування. Коротко, послідовності CDR A5 клонували до каркасу Fab IgG1, у результаті чого отримували фрагмент Fab, позначений у даному документі як Fab1 або Fab1. Послідовності VH та VL Fab1 розкриті як SEQ ID. NO: 4 та 8 відповідно.

Варіанти Fab2-9 також отримували із Fab1, що містить мутації в областях CDR. Комбінації CDR VH та VL для кожного з Fab1-9 показані у Табл. 3.

Таблиця 3

Послідовність CDR Fab1-9 до TSLP

	CDR1, 2 та 3 VH	CDR1, 2 та 3 VL
Fab ₁	SEQ ID NO: 1, 2 та 3	SEQ ID NO: 5, 6 та 7
Fab ₂	SEQ ID NO: 1, 2 та 3	SEQ ID NO: 11, 6 та 7
Fab ₃	SEQ ID NO: 1, 2 та 3	SEQ ID NO: 14, 6 та 7
Fab ₄	SEQ ID NO: 1, 15 та 3	SEQ ID NO: 5, 6 та 7
Fab ₅	SEQ ID NO: 1, 17 та 3.	SEQ ID NO: 5, 6 та 7
Fab ₆	SEQ ID NO: 1, 2 та 3	SEQ ID NO: 19, 6 та 7
Fab ₇	SEQ ID NO: 1, 2 та 3	SEQ ID NO: 19, 6 та 7
Fab ₈	SEQ ID NO: 1, 2 та 3	SEQ ID NO: 5, 6 та 23
Fab ₉	SEQ ID NO: 1, 2 та 3	SEQ ID NO: 5, 6 та 25

Аналізували чистоту, стабільність та здатність Fab1 до агрегації. Коротко, 50 мг/мл Fab1 становили на основі 30 мМ цитрату натрію, 105 мМ трегалози, pH 6,0. Зразки поміщали у камери стабільності при 40 °C та 5 °C протягом різних періодів часу. У різні часові точки зразки тестували за допомогою відповідних аналітичних методик, таких як високоефективна ексклюзивна хроматографія (HP-SEC). Використовували систему HPLC Agilent з автоматичним пробовідбірником із регульованою температурою, DAD або VWD та програмне забезпечення Agilent ChemStation/OpenLAB ECM CDS від Agilent Technologies (Санта-Клара, Каліфорнія, США). Також використовували запобіжну колонку, колонку TSKgel (внутрішній діаметр 7,9 мм, каталожний номер 08543) та колонку TSK-Gel G3000SWxl (5 мкм, 250 Å і 7,8×300 мм, каталожний номер 08541) від Tosoh Bioscience (Griesheim, Германія). Як рухливу фазу використовували 0,1 М двоосновний безводний фосфат натрію, 0,1 М сульфат натрію, pH 6,8. Результати аналізу стабільності та агрегації представлені у Табл. 4.

Таблиця 4

Стабільність та агрегація Fab₁

	5 °C			40 °C		
Місяці	% мономерів	% агрегатів	% фрагментів	% мономерів	% агрегатів	% фрагментів

0,0	99,57	0,43	0,00	99,57	0,43	0,00
0,2				99,56	0,44	0,00
0,5	99,51	0,49	0,00	99,31	0,55	0,14
0,7				99,25	0,61	0,14
1	99,48	0,52	0,00	99,13	0,65	0,21
2	99,49	0,51	0,00			
3	99,47	0,53	0,00			
Швидкість (M^{-1})	-0,03	0,03	0,00	-0,51	0,27	0,25
RSQ	0,6504	0,6504	н. в.	0,9296	0,9447	0,8943

Стабільність Fab1 також тестували за допомогою диференціальної скануючої калориметрії (DSC). Для тестування використовували MicroCal Capillary VP DSC від Malvern Panalytical (Малверн, Великобританія), а для аналізу даних використовували програмне забезпечення Origin 7.0 (Нортгемптон, Массачусетс, США). Зразок Fab1 розбавляли до 5 мг/мл буфером складу (30 mM цитрату натрію, 105 mM трегалози, pH 6,0). Для кожного окремого циклу 500 мкл розведеного зразка Fab1 та еталона (буфер складу) вводили у зразок DSC та еталонні комірки за допомогою автоматичного пробовідбірника. Розчини нагрівали від 25 °C до 100 °C зі швидкістю сканування 95 °C/година. Сканування буфера (заповненого як зразком, так і еталонними комірками) також отримували як холосту пробу для корекції зразка вихідного рівня.

Профіль заряду Fab1 також визначали за допомогою візуалізації ізоелектричного фокусування (IEF) за допомогою аналізатора iCE3. Капілярний аналізатор IEF iCE3, автоматичний пробовідбірник PrinCE MicroInjector, капіляр для перенесення з покриттям MicroInjection купували та постачали компанією Protein Simple. Зразки аналізували із використанням картриджа FC із капіляром із фторвуглецевим покриттям та вбудованими резервуарами для електроліту (Частина № 101701, Protein Simple). Автоматичний пробовідбірник підтримували при 4 °C протягом усього аналізу. Визначали, що діапазон pI Fab1 становить від 8,35 до 8,80.

ПРИКЛАД 2 - FAB1 ЗВ'ЯЗУЄТЬСЯ ІЗ TSLP ЛЮДИНИ ТА ЯВАНСЬКОГО МАКАКА З АФІННІСТЮ, ЩО ВИМІРЮЄТЬСЯ У ПМ

Афінність зв'язування Fab1 із TSLP, визначена за допомогою BIAcore

Специфічність та афінність Fab1 по відношенню до рекомбінантних клітин ссавців TSLP людини та яванського макака, що експресуються клітинами, визначали із використанням приладу Biacore 8K SPR (GE Healthcare, Літл Чалфонт, Бакс, Великобританія).

Біосенсорні чіпи S Series C1, набори для зв'язування амінів, буфери на основі фізіологічного розчину, забуферені Hepes, та буфери для регенерації отримані від GE Healthcare та використовували відповідно до інструкцій виробника. Поверхні зі стрептавідином готували за допомогою ліофілізованого стрептавідину, розведеного за допомогою D-PBS. Коротко, стрептавідин розбавляли до 4 мкг/мл в 10 mM ацетаті натрію, pH 4,5, та ковалентно імобілізували на трьох поверхнях проточної кювети біосенсорного чіпа S Series C1 із застосуванням стандартних способів імобілізації за аміногрупою. Кінцева поверхня стрептавідину досягала 170 одиниць відповіді (RU). Реагенти для імобілізації аміногрупи також використовували для отримання контрольної холостої поверхні без імобілізованого стрептавідину, яка служила еталонною поверхнею у кожній проточній кюветі. Потім мічений на N-кінці біотинільований TSLP (людини та яванського макака) титрували на кожній поверхні стрептавідину для забезпечення зв'язування <100 RU Fab1 при насиченні (Rmax). Низький рівень зв'язування аналіту гарантував, що артефакти, спричинені масопереносом, зводили до мінімуму, особливо у поєднанні із відносно високими швидкостями потоку аналізу, що становлять 50 мкл хв.⁻¹, що використовуються на етапах вимірювання кінетики. Розведення (багатоциклова кінетика) мономеризованого Fab1 (2-кратні розведення у HBS-EP+ буфері у діапазоні від 1,25 до 20 nM) вводили при швидкості потоку аналізу 50 мкл/хв.⁻¹ протягом 2 хвилин асоціації та 10 хвилин дисоціації. Декілька введення тільки із використанням буфера виконували в одних і тих самих умовах протягом усього експерименту для забезпечення подвійної обробки еталона кінцевих наборів сенсограм.

Поверхню чіпа повністю регенерували через пропускання двох 30-секундних імпульсів, що складаються з 10 mM гліцину, pH 1,7. Афінність зв'язування та кінетику визначали із використанням моделі Ленгмюра у співвідношенні 1:1.

Результати, представлені у Табл. 5 демонструють, що Fab1 зв'язується з імобілізованими TSLP людини та яванського макака з аналогічними афінностями (у межах 2-кратного значення; 46 pM та 88 pM відповідно).

Таблиця 5

Аналіт	k_a ($M^{-1}s^{-1}$)	k_d (s^{-1})	K_D (pM)
TSLP людини	2,39 E6	1,11 E-4	46,3
TSLP яванського макака	1,75 E6	1,55 E-4	88,4

Афінність зв'язування, яка визначається за допомогою аналізу кінетичного виключення (KinExA).

Афінність зв'язування фази розчину (K_D) Fab₁ із TSLP людини та яванського макака також визначали із використанням приладу KinExA 3200 (Sapidyne Instruments, Бойсе, Айдахо, США), а отримані дані обробляли із використанням програмного забезпечення KinExA Pro версії 4.1.11. Розглядали методологію KinExA (Darling and Brault, 2004).

Fab₁ попередньо змішували із різними концентраціями кожного з TSLP людини та яванського макака доти, доки не було досягнуто рівновагу (щонайменше 12 концентрацій кожного TSLP людини та яванського макака отримували із використанням методу 2-кратного серійного розведення). Потім вимірювали кількість вільного Fab₁ із використанням приладу KinExA за допомогою захоплення вільного Fab за допомогою гранул, покритих TSLP людини, вимивання незв'язаного матеріалу та флуориметричного виявлення зв'язаного Fab₁ із використанням комерційного видоспецифічного антитіла (міченого Alexa Fluor 647 специфічного мишачого антитіла до важкого та легкого ланцюга людини (Jackson ImmunoResearch 209-605-088)). K_D Fab₁ для TSLP людини отримували за допомогою глобального підбору 1:1 відносно трьох наборів даних, отриманих у результаті титрування TSLP людини розчинами Fab₁ із фіксованою концентрацією 1000 pM (заштриховані ромби), 500 pM (перевернені заштриховані трикутники) або 40 pM (незаштриховані квадрати) (Фіг. 1). K_D Fab₁ для TSLP яванського макака отримували за допомогою глобального підбору 1:1 відносно двох наборів даних, отриманих у результаті титрування TSLP яванського макака розчинами Fab₁ із фіксованою концентрацією 1000 pM (заштриховані ромби) або 40 pM (незаштриховані квадрати) (Фіг. 2).

Кількість вільного Fab₁, виявлену при кожній концентрації TSLP людини та яванського макака, наносили на графік залежно від концентрації титрованої TSLP (Фіг. 1 та 2 відповідно). Програмне забезпечення KinExA використовували для розрахунку рівноважної константи дисоціації (K_D). Результати, наведені в Табл. 6 демонструють, що Fab₁ зв'язується із TSLP людини з афінністю в 1,7 рази вище, ніж з TSLP яванського макака у вільному розчині.

Таблиця 6

Афінність розчинної фази Fab₁ відносно TSLP людини та яванського макака із використанням KinExA

Ліганд	Афінність (K_D), pM
TSLP людини	8,0 (95 % дов. інт. 6,27-10,01 pM)
TSLP яванського макака	13,6 (95 % дов. інт. 9,07-19,22 pM)

ПРИКЛАД 3 - FAB1 ТА ТЕЗЕПЕЛУМАБ ЗВ'ЯЗУЮТЬСЯ ІЗ TSLP З АНАЛОГІЧНИМИ ХАРАКТЕРИСТИКАМИ ЗВ'ЯЗУВАННЯ

Характеристики зв'язування Fab₁ із TSLP людини безпосередньо порівнювали з тезепелумабом. Тезепелумаб являє собою моноклональне антитіло (mAb) на основі імуноглобуліну G2 (IgG2) людини, яке зв'язується із TSLP, попереджаючи його взаємодію із рецепторним комплексом TSLP. Дослідження для підтвердження концепції у пацієнтів із легкою формою atopічної бронхіальної астми продемонструвало, що тезепелумаб пригнічує ранню та пізню астматичну відповідь та пригнічує біомаркери запалення Th2 після впливу алергену при вдиханні. Тезепелумаб на даний час досліджується у клініці як спеціалізований засіб для лікування бронхіальної астми важкого ступеня тяжкості.

Зв'язуючу здатність Fab₁ in vitro визначали із використанням гомогенної флуоресценції із тимчасовою роздільною здатністю (HTRF®, Cisbio International) на основі гомогенної флуоресценції із резонансним переносом енергії (FRET) на основі аналізу зв'язування TSLP та mAb. Для виявлення біотинілованого TSLP використовували криптант стрептавідину. Коротко, зразки неміченого Fab₁ титрували в аналізі HTRF для конкурування із міченим DyLight тезепелумабом за зв'язування з біотинільованим міченим His-Avi TSLP людини. Також проводили конкурентний аналіз із використанням неміченого тезепелумабу та міченого DyLight тезепелумабу як позитивний контроль.

Результати показують, що Fab₁ конкурує за зв'язування із TSLP людини із тезепелумабом та зв'язується із TSLP людини з ефективністю, аналогічною до тезепелумабу (IC₅₀: Fab₁ - 0,38 nM; тезепелумаб - 0,23 nM - Фіг. 3). Аналіз HTRF також проводили із використанням Fab2-9, який показує, що кожен із цих Fab також конкурує за зв'язування із TSLP людини із тезепелумабом та зв'язується з hu TSLP з ефективністю, аналогічною тезепелумабу (Табл. 7).

IC₅₀ Fab2-9, визначена за допомогою аналізу HTRF

	IC ₅₀ (нМ)
Fab ₂	0,29
Fab ₃	0,24
Fab ₄	0,36
Fab ₅	0,42
Fab ₆	0,32
Fab ₇	0,24
Fab ₈	0,29
Fab ₉	0,29

ПРИКЛАД 4 - FAB₁ НЕЙТРАЛІЗУЄ АКТИВНІСТЬ TSLP У АНАЛІЗІ МОНОНУКЛЕАРНИХ КЛІТИН ПЕРИФЕРИЧНОЇ КРОВІ (PBMC)

Потім визначали, чи характеризується зв'язування Fab₁ із TSLP функціональною блокуючою активністю в аналізі первинних клітин шляхом вимірювання індукованого TSLP вивільнення CCL17 із PBMC при обробці Fab₁.

Кров отримували від здорових донорів у рамках програми донорства крові, створеної у MedImmune, Кембридж, Великобританії. Мононуклеарні клітини периферичної крові виділяли із використанням градієнта у фіколі. Коротко, 20 мл крові, розведеної PBS (10 мл крові:30 мл PBS) нашаровували на 15 мл фіколу. Пробірки обертали при 400 g протягом 40 хвилин при кімнатній температурі без гальмування. Шари PBMC збирали та клітини двічі промивали 50 мл PBS. PBMC підраховували із використанням гемоцитометра та трипанового синього для виключення мертвих клітин та ресуспендували у культуральному середовищі (RPMI із 10 % фетальною телячою сироваткою та 1 % розчином пеніцилін/стрептоміцин) перед висіванням у 96-лунковий планшет. Клітини стимулювали за допомогою TSLP (0,5 нг/мл) у присутності TSLP-зв'язуючого фрагмента антитіла Fab₁ протягом 48 годин. Аналізи також проводили із використанням TSLP-зв'язуючого антитіла тезепелумабу як позитивний контроль. Через 48 годин супернатанти видаляли та аналізували відносно продукування CCL17 з використанням R&D duoset ELISA, відповідно до протоколу виробника. Експерименти проводили за участю шести донорів у трьох незалежних експериментах.

Результати показують, що Fab₁ пригнічує продукування CCL17 із PBMC із IC₅₀, що становить 1,39 нМ (Фіг. 4). Аналіз повторювали, використовуючи на додаток до Fab₁, Fab₂ та Fab₃ (що містять послідовності варіабельної області важкого ланцюга та варіабельної області легкого ланцюга, як показано у Табл. 3), та отримували аналогічні результати (Фіг. 5).

ПРИКЛАД 5 - ВИЗНАЧЕННЯ МАКСИМАЛЬНО ПЕРЕНОСИМОЇ ДОЗИ ТА ФАРМАКОКІНЕТИКА ПІСЛЯ ІНГАЛЯЦІЇ FAB₁ У ЯВАНСЬКИХ МАКАК

Мета дослідження полягала у тому, щоб визначити максимально дозу (MTD) або максимально можливу дозу (MFD) та фармакокінетику (PK) аерозольного Fab₁ після інгаляційного впливу через маску для обличчя у яванських макак.

Самиці яванських макаків отримували одноразову інгаляцію Fab₁ протягом 8 хвилин та 20 хвилин (групи 1 та 2, по три тварини у групі). Дози, що доставляють у легені для груп 1 та 2, становили 1 та 2 мг/кг на основі 25 % легеневих відкладень. Група 3 являла собою групу із повторним підвищенням дози. Одну самицю та одного самця яванського макака обробляли наступним чином: інгаляції щодня протягом 8 хвилин протягом перших 2 днів, інгаляції щодня протягом 20 хвилин протягом 2 днів, інгаляції щодня протягом 60 хвилин протягом 3 днів. Серійні зразки крові збирали для визначення PK Fab₁ у сироватці крові та концентрації сечовини. Зразки бронхоальвеолярного лаважу (BAL) збирали для визначення PK Fab₁ та концентрації сечовини. Рідину епітеліальної вистілки (ELF) розраховували на основі BAL із використанням концентрації сечовини як маркер розведення. Гібридний спосіб визначення імуноафінності LC-MS/MS застосовували для визначення концентрації Fab₁ у матрицях зразків сироватки крові та BAL. Нижня межа кількісного визначення становила 4 нг/мл у сироватці крові та 10 нг/мл у BAL. Некомпаратментний аналіз (NCA) виконували на основі даних фармакокінетики плазми крові індивідів із використанням Phoenix WinNonlin (версія 7.0, Certara, LP, Сент-Луїс, Міссурі).

Після інгаляції Fab₁ концентрація PK, BAL та ELF у сироватці крові підвищувалася залежно від дози, та спостерігали високу варіабельність концентрації Fab₁ (Фіг. 6A-6C). Середній кінцевий період напівжиття Fab₁ у сироватці крові варіював у діапазоні від 9,75 до 13,6 годин. Стах у сироватці крові досягалася при медіані T_{max} від 2 до 4 годин після інгаляції. Концентрація ELF була набагато вищою, ніж у сироватці крові після інгаляції (>2000 разів вище), вказуючи на те, що розподіл Fab₁ у сироватці крові був низьким після інгаляційної дози.

Приклад 6. ОЦІНКА ФІЗИЧНИХ ХАРАКТЕРИСТИК ВИСУШЕНИХ РОЗПИЛЕННЯМ СКЛАДІВ, ЩО МІСТЯТЬ ЛЕЙЦИН ТА ТРИЛЕЙЦИН

У наступних способах оцінюють вплив співвідношень концентрацій трилейцину та лейцину на властивості частинок.

Загалом 24 порошки із різним ваг. % трилейцину, лейцину та трегалози (TLT) сушили розпиленням на пілотній розпилювальній сушарці із використанням ідентичних параметрів способу при загальній концентрації твердих речовин у вихідній сировині, що становить 10 %. Оскільки вихідну сировину отримували при загальній концентрації твердих речовин, що становить 10 % (100 мг/мл), всі значення ваг. % у цьому дослідженні також ідентичні значенням концентрації (мг/мл). Діапазон значень концентрації для кожної допоміжної речовини у вигляді частинок показаний у Табл. 8.

Таблиця 8

Діапазони складів компонентів частинок

Компонент	Мінімальне значення	Максимальне значення
Трилейцин	0,71 мг/мл	5,72 мг/мл
Лейцин	0,62 мг/мл	19,94 мг/мл
Трегалоza	65,84 мг/мл	90,16 мг/мл
Цитрат тринатрію	8,5 мг/мл	8,5 мг/мл

Кожну вихідну сировину (Табл. 9) отримували за допомогою розчинення допоміжних речовин у воді. Після повного розчинення усіх допоміжних речовин сировину сушили розпиленням при наступних параметрах способу: температура на виході 70 °C; швидкість подачі вихідної сировини 12 мл/хв.; потік газу розпилювача 13 кг/год.; та швидкість газу-осушувача 80 кг/год. Параметри вибирали для досягнення цільових властивостей частинок та аерозолі для складу сухого порошку, призначеного для інгаляції. Кожну із 24 композицій виготовляли партіями по 18 г, щоб забезпечити достатньо порошку для характеристики та оцінки функціональних характеристик продукту. Партії рандомізували та отримували протягом двох днів.

Таблиця 9

Концентрації вихідної сировини для складів 1-24

Цикл	Концентрація трилейцину	Концентрація лейцину	Концентрація трегалози	Концентрація цитрату тринатрію	Співвідношення концентрації лейцин/трилейцин
	мг/мл	мг/мл	мг/мл	мг/мл	
1	1,43	13,08	76,99	8,5	9,1
2	0,71	0,62	90,16	8,5	0,9
3	0,71	4,98	85,80	8,5	7,0
4	0,71	19,94	70,85	8,5	28,1
5	1,43	16,20	73,87	8,5	11,3
6	2,86	14,95	73,69	8,5	5,2
7	2,86	9,97	78,67	8,5	3,5
8	2,86	19,94	68,70	8,5	7,0
9	2,86	4,36	84,28	8,5	1,5
10	5,72	19,94	65,84	8,5	3,5
11	0,71	15,58	75,21	8,5	21,9
12	5,72	15,58	70,20	8,5	2,7
13	5,00	11,84	74,66	8,5	2,4
14	0,71	7,48	83,31	8,5	10,5
15	2,86	0,62	88,02	8,5	0,2
16	3,57	18,07	69,86	8,5	5,1
17	5,72	0,62	85,16	8,5	0,1
18	5,72	6,23	79,55	8,5	1,1
19	1,43	11,22	78,85	8,5	7,0
20	0,71	9,97	80,82	8,5	14,0
21	4,29	3,12	84,10	8,5	0,7
22	4,29	16,82	70,39	8,5	3,9

23	5,72	9,97	75,81	8,5	1,7
24	3,57	9,97	77,96	8,5	2,8

Для усіх складів тестували фізичні характеристики порошку.

Таблиця 10

Параметри частинок, що аналізують

Аналіз / Вихід DOE	Пристрій
Вміст залишкової вологи	Піч KF
Розподіл первинних частинок за розміром	Sympatec R
Температура скловання (Tg)	DSC
Щільність спресованої нерозфасованої речовини ¹	GeoPyc
Візуальна морфологія SEM (якісна)	SEM
Питома площа поверхні	BET
Кристалічність (якісна)	XRPD
Покриття поверхні частинки допоміжною речовиною	ToF-SIMS

¹Сила 300000 Н/м², або 38 Н при використанні камери для зразка розміром 12,7 мм.

Щільність спресованої нерозфасованої речовини (сBD) порошоків вимірювали із використанням аналізатора щільності GeoPyc® Model 1360 (Micromeritics, Норкрос, Джорджія). Зразки порошку отримували у середовищі із низькою вологістю (<5 % RH) перед перенесенням у камеру для проб аналізатора щільності, яку продували газоподібним азотом. Фіксували масу нетто зразка порошку, а потім за допомогою поршня до зразка прикладали зусилля стиснення 12 Н, зі швидкістю 300 етапів ущільнення на секунду. Лінійна відстань, пройдена поршнем на кожному етапі ущільнення, перетворювали на об'ємне зміщення зразка порошку. Середнє значення вимірювань на кожному етапі ущільнення потім перетворювали на розрахункове значення щільності нерозфасованої речовини, виражене у г/см³.

Результати показують, що вміст лейцину та трилейцину значно впливає на властивості частинок. Трилейцин визначали як первинний фактор із найбільш високим впливом, у той час як лейцин ідентифікували як вторинний фактор із помітним впливом. Результати представлені у Табл. 11.

Таблиця 11

Результати визначення характеристик частинок

Аналіз / Вихід DOE	Вплив
Вміст залишкової вологи	Кореляція зниження вмісту вологи із підвищенням вмісту лейцину (див. Фіг. 14)
Розподіл первинних частинок за розміром	Для лейцину або трилейцину тенденції не спостерігали
Температура скловання (Tg)	Для лейцину або трилейцину тенденції не спостерігали
Щільність спресованої нерозфасованої речовини ¹	Первинна негативна кореляція із трилейцином; вторинна негативна кореляція із лейцином. сBD становить від 0,45 до 0,85 г/см ³ (Фіг. 8A).
Візуальна морфологія SEM	Позитивна кореляція із трилейцином та шорсткістю/нерівністю поверхні (Фіг. 11A-11D)
Питома площа поверхні	Первинна позитивна кореляція із трилейцином; вторинна позитивна кореляція із лейцином складів SSA становить від 2,5 до 6,5 м ² /г (Фіг. 9)
Кристалічність	Більш високу кристалічність досягали при більш високому вмісті лейцину у поєднанні з більш низьким вмістом трилейцину.
Покриття поверхні частинки допоміжною речовиною	Більше високе покриття поверхні досягається за рахунок підвищення ваг. % трилейцину та лейцину (50 % покриття частки трилейцину досягали при вмісті вище 1,4 ваг. %)

¹Сила 300000 Н/м², або 38 Н при використанні камери для зразка розміром 12,7 мм.

ПРИКЛАД 7 - ФУНКЦІОНАЛЬНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ АЕРОЗОЛЮ СКЛАДІВ ЛЕЙЦИН/ТРИЛЕЙЦИН

У наступному прикладі оцінюють характеристики аерозолю складів, що містять лейцин та трилейцин, у пристрої для інгаляції сухого порошку. Вихідні функціональні характеристики аерозолів, перелічені у Табл. 7, тестували у 20 з 24 складів, перелічених у Табл. 4. Характеристики всіх функціональних характеристик продукту виконували із використанням Monodose RS01 пристрою із капсулами розміру 3. Аналіз імпактора нового покоління (NGI) виконували при швидкості потоку, що становить 60 л/хв.

Каскадне імпресійне випробування проводили відповідно до USP <601> для вимірювання функціональних характеристик аерозолю висушених розпиленням складів при доставці із пристрою для інгаляції сухого порошку. Як каскадний імпакторний пристрій використовувався імпактор нового покоління (NGI; USP41, розділ <601>). Для вимірювань аерозолю, проведених у цих прикладах, одну капсулу HPMC розміру 3, що містить висушений розпиленням склад порошку, диспергували із пристрою для інгаляції сухого порошку та доставляли у NGI під вакуумом із виштовхуванням при 60 л/хв. відповідно до методики USP. Зразки із кожної стадії NGI вилучали та аналізували відносно вмісту білка за допомогою УФ- поглинання при 280 нм. Основними параметрами аерозольних характеристик, які розраховані на основі цих вимірювань, були: а) фракцією дрібнодисперсних частинок <5 мкм (FPF <5 мкм), яка визначається як частка порошку, що викидається із пристрою, яка при вимірюванні повинна становити <5 мкм в аналізі аеродинамічного діаметра частинок; та б) медіанний масовий аеродинамічний діаметр MMAD.

Таблиця 12

Характеристики аерозолів

Аналіз / Вихід DOE	Пристрій/методика, що використовуються
Медіанний масовий аеродинамічний діаметр (MMAD)	NGI
% відкладення на пристрої	NGI
% FPF < 5 мкм	NGI

Результати аналізу аерозолю представлені у Табл. 13.

Таблиця 13

Результати характеристики аерозолю

Аналіз / Вихід DOE	Вплив
MMAD (медіанний масовий аеродинамічний діаметр)	Значна негативна кореляція із трилейцином. Досягали діапазону значень MMAD від 1,75 до 3,25 мкм (Фіг. 12).
% відкладення на пристрої	Покрокова кореляція із трилейцином. Як правило, використання ваг. % трилейцину вище 3 % призводило до зниження відкладення на пристрою (Фіг. 13).
% FPF (фракція дрібнодисперсних частинок) < 5 мкм	Позитивна кореляція із трилейцином. Негативна кореляція із лейцином. Усі 20 протестованих складів характеризувалися FPF > 60 %, що свідчить про високі функціональні характеристики (Фіг. 14).

ПРИКЛАД 8 - ОТРИМАННЯ ІНГАЛЯЦІЙНИХ СКЛАДІВ ЛЕЙЦИН/ТРИЛЕЙЦИН, ЩО МІСТЯТЬ ЗВ'ЯЗУЮЧИЙ ФРАГМЕНТ АНТИТІЛА ДО TSLP (FAB)

Тестували характеристики іншого складу, що містить інший Fab. Використовували Fab до TSLP, отриманий із моноклонального антитіла IgG1 людини, яке специфічно зв'язує TSLP (стромальний лімфопоетин тимусу) (див. послідовності, представлені у SEQ ID NO: 1-8, представлені у даному документі). Створювали окремі склади, що містять масові концентрації, зазначені у Табл. 14.

Таблиця 14

Склади висушених розпиленням складів, що містять Fab до TSLP

Склад	Fab до TSLP [% ваг./ваг.]	Трегалоза [% ваг./ваг.]	Лейцин [% ваг./ваг.]	Трилейцин [% ваг./ваг.]	Цитрат, pH 6,0 [% ваг./ваг.]
№1	1	78	10,5	2	8,5

№2	12	67	10,5	2	8,5
№3	40	39	10,5	2	8,5

Спочатку Fab до TSLP отримували у рідкому буфері, що містить 105 мМ трегалози, 30 мМ цитрату, рН 6,0. Лейцин, трилейцин, трегалозу та цитрат розчиняли в окремому водному розчині, який потім додавали до розчину Fab до TSLP для створення нерозфасованих рідких вихідних розчинів для сушіння розпиленням. У Табл. 15 наведені склади вихідної сировини, приготовані для отримання цільових композицій складів порошку. Потім рідкі розчини вихідної сировини сушили розпиленням із використанням параметрів способу, перерахованих Табл. 16. Параметри вибирали для досягнення цільових властивостей частинок та аерозолі для складу сухого порошку, призначеного для інгаляції.

Таблиця 15

Склади рідкої вихідної сировини для сушіння розпиленням

	Склад №1	Склад №2	Склад №3
Fab до TSLP [мг/мл]	0,75	9,0	24
Трегалоза [мг/мл]	58,5	50,3	23,4
Лейцин [мг/мл]	7,9	7,9	6,3
Трилейцин [мг/мл]	1,5	1,5	1,2
Цитрат, рН 6,0 [мг/мл]	6,4	6,4	5,1
Загальна концентрація вихідної сировини [мг/мл]	75	75	60

Таблиця 16

Основні параметри сушіння розпиленням

	Склад №1	Склад №2	Склад №3
Температура на виході (°C)	70	70	70
Швидкість подачі вихідної сировини (мл/хв.)	20	17	3
Швидкість потоку газу розпилювача (кг/год.)	13	13	2,1
Швидкість потоку газу-осушувача (кг/год.)	155	155	59,5

Результати характеристики функціональних характеристик порошку та аерозолі складів, висушених розпиленням, представлені у Табл. 17. Для вимірювання функціональних характеристик аерозолі всі три склади були тестовані з 20 мг висушеного розпиленням порошку, поміщеного у капсулу HPMS розміру 3 та диспергованого із пристрою для інгаляції сухого порошку.

Таблиця 17

Властивості порошку та аерозолі висушених розпиленням складів, що містять Fab до TSLP

	Склад №1 1 % ваг./ваг. Fab до TSLP	Склад №2 12 % ваг./ваг. Fab до TSLP	Склад №3 40 % ваг./ваг. Fab до TSLP
oVMD [мкм] (n=2)	1,5 (d50) 3,5 (d90)	1,5 (d50) 3,5 (d90)	1,9 (d50) 4,1 (d90)
cBD [г/см ³]	0,72	0,70	0,58
SSA [м ² /г]	3,5	4,12	4,6
FPM _{< 5 мкм} [мг Fab1] (n= 3)	0,17	1,9	5,9
FPF _{< 5 мкм} [%] (n=3)	95,1	94,3	85,4
MMAD (n=3)	2,3	2,2	2,7

Особливо слід відзначити ефективність наповнення 50 мг складу №3 в одну капсулу із HPMS розміру 3 завдяки високій щільності нерозфасованого порошку. Висока об'ємна густина (cBD) дозволила доставити дуже велике корисне навантаження з однієї капсули (FPM <5 мкм близько 14 мг,

FPF 82 %, MMAD 2,4 мкм).

Крім того, склад №3 демонструє аналогічну cBD (0,58 г/см³) та SSA (4,6 м²/г) порівняно зі складом №2 Fab до IL-4 (cBD=0,59 г/см³, SSA=4,5 м²/г), що вказує на те, що властивості порошку поширюються на фармацевтичні склади, що містять різні активні інгредієнти.

ПРИКЛАД 9 - ВЛАСТИВОСТІ ПОРОШКУ ТА АЕРОЗОЛЮ ВИСУШЕНИХ РОЗПИЛЕННЯМ СКЛАДІВ, СПРЯМОВАНИХ ПРОТИ TSLP, ПРИ ТРЬОХ РОЗМІРАХ ПАРТІЙ

У цьому прикладі представлений аналіз властивостей порошку та аерозолі складів Fab до TSLP на основі лейцину/трилейцину із використанням партій більшого розміру для проведення токсикологічних досліджень при інгаляційному введенні, що не відповідають GLP, та таких, що відповідають GLP. Масштабування вимагає використання обладнання для розпилювального сушіння альтернативного масштабу та коригування параметрів способу розпилювального сушіння з урахуванням підвищення теплового та масового потоку через систему та необхідності у більш тривалих циклах обробки.

Три партії висушених розпиленням складів Fab до TSLP виготовляли при зростаючих розмірах партій. Партії включали: Fab TSLP 40 % ваг./ваг., трегалозу 39 % ваг./ваг., лейцин 10,5 % ваг./ваг., трилейцин 2 % ваг./ваг. та цитрат pH 6,0 8,5 % ваг./ваг. Параметри способу, вибрані для кожної партії, показані у Табл. 18.

Таблиця 18

Параметри способу розпилювального сушіння для трьох партій складів Fab до TSLP при зростаючих розмірах партій

	Партія №1	Партія №2	Партія №3
Концентрація вихідної сировини [мг/мл]	60	75	75
Температура на виході (°C)	70	70	70
Швидкість подачі вихідної сировини (мл/хв.)	3	5	12
Швидкість потоку газу розпилювача (кг/год.)	2,1	2,1	13,3
Швидкість потоку газу-осушувача (кг/год.)	59,5	59,5	155
Загальний розмір партії*	8,5 г	348 г	1,2 кг
Розпилювальна сушарка	Лабораторний масштаб	Лабораторний масштаб	Проміжний масштаб
Дні/години виробництва	1 день / 1,1 год.	2 дні / 15,9 год.	2 дні / 22,4 год.

*Вага обробленого порошку.

Тестування аерозольних характеристик партії №1 проводили із масою наповнювача порошку, що становить 50 мг, у капсулі HPMC розміру 3, тоді як партії №2 та №3 випробовували із масою наповнювача, що становить 20 мг. Незважаючи на незначне підвищення oVMD по мірі підвищення розміру партії з 8,5 г до 1,2 кг, щільність пресованого нерозфасованого порошку (cBD) досягала від 0,45 до 0,85 г/см³. Функціональні характеристики аерозолі порошоків також зберігалися незалежно від розміру партії завдяки доставці високого корисного навантаження у вигляді Fab до TSLP з інгаляційного пристрою на основі капсули. Це демонструє масштабованість складу із мінімальними коригуваннями способу сушіння розпиленням. Повні результати визначення характеристик порошку та тестування функціональних характеристик аерозолі наведено у Табл. 19.

Таблиця 19

Властивості порошку та характеристики аерозолі для трьох партій Fab до TSLP при зростаючих розмірах партій

	Партія №1	Партія №2	Партія №3
oVMD [мкм] (n=2)	1,5 (d50) 3,2 (d90)	1,7 (d50) 3,8 (d90)	1,9 (d50) 4,1 (d90)
cBD [г/см ³]			0,58
SSA [м ² /г]			4,6
FPM _{< 5 мкм} [мг Fab до TSLP] (n=3)	14,3	5,6	5,9
FPF _{< 5 мкм} [%] (n=3)	81,9	83,4	85,4
MMAD [мкм] (n=3)	2,4	2,4	2,7

ПРИКЛАД 10. ДОДАТКОВА ХАРАКТЕРИСТИКА СКЛАДІВ ЛЕЙЦИН/ТРИЛЕЙЦИН, що містять поверхнево-активну речовину.

Отримували додаткові партії складів трилейцин/лейцин, що містять різні кількості PS-80. Композиції складів та параметри способу отримання кожної партії показані у Табл. 20. В іншому отримання складу було таким же, як описано у Прикладі 6.

Таблиця 20

Композиції складів та параметри способу сушіння розпиленням для складів, що містять зростаючі кількості PS-80

Опис	40 % FAB ₁ , контроль (без PS80)		40 % FAB ₁ , 0,27 % ваг./ваг. PS80 (0,02 % ваг./об. PS80)		40 % FAB ₁ , 0,67 % ваг./ваг. PS80 (0,05 % ваг./об. PS80)		40 % FAB ₁ , 1,33 % ваг./ваг. PS80 (0,10 % ваг./об. PS80)		40 % FAB ₁ , 2,00 % ваг./ваг. PS80 (0,15 % ваг./об. PS80)		40 % FAB ₁ , 2,67 % ваг./ваг. PS80 (0,20 % ваг./об. PS80)	
Склад	% ваг./ваг	мг/мл	% ваг./ваг	мг/мл	% ваг./ваг	мг/мл	% ваг./ваг	мг/мл	% ваг./ваг	мг/мл	% ваг./ваг	мг/мл
FAB ₁	40,00	29,60	40,00	29,60	40,00	30,00	40,00	30,00	40,00	30,00	40,00	29,20
Безводний цитрат тринатрію	7,75	5,74	7,75	5,74	7,75	5,81	7,75	5,81	7,75	5,81	7,75	5,66
Безводна лимонна кислота	0,75	0,56	0,75	0,56	0,75	0,56	0,75	0,56	0,75	0,56	0,75	0,55
Безводна трегалоза	39,00	28,86	38,73	28,66	38,34	28,75	37,67	28,26	37,02	27,76	36,29	26,49
Трилейцин	2,00	1,48	2,00	1,48	2,00	1,50	2,00	1,50	2,00	1,50	2,00	1,46
Лейцин	10,50	7,77	10,50	7,77	10,50	7,88	10,50	7,88	10,50	7,88	10,50	7,67
PS80	0,00	0,00	0,27	0,20	0,66	0,50	1,33	0,99	1,98	1,49	2,71	1,98
Газ-осушувач (ст. л./хв.)	850		850		850		850		850		850	
Швидкість подачі рідини (мл/хв.)	5		5		5		5		5		5	
Розпилювач (ст. л./хв.)	30		30		30		30		30		30	
Температура на вході (°C)	100		100		100		100		100		100	
Температура на виході (°C)	70		70		70		70		70		70	
GLR	7		7		7		7		7		7	
Час циклу (год.)	0,68		0,27		0,67		0,67		0,67		0,68	

Властивості аерозолі складів у Табл. 20 аналізували із застосуванням способів, розкритих у Прикладі 7. Результати аналізу показані у Табл. 21.

Таблиця 21

Функціональні характеристики аерозолі складів, що містять PS-80

Опис	% FPF (< 5,0 мкм)	FPM (< 5,0 мкм)	MMAD (мкм)
		(мг)	
40 % FAB ₁ , контроль	78	5,5	2,55
40 % FAB ₁ , 0,27 % ваг./ваг. PS80	77	5,9	2,56
40 % FAB ₁ , 0,67 % ваг./ваг. PS80	70	4,4	2,68
40 % FAB ₁ , 1,33 % ваг./ваг. PS80	75	4,5	2,7
40 % FAB ₁ , 2,00 % ваг./ваг. PS80	82	4,2	2,27

40 % FAB ₁ , 2,67 % ваг./ваг. PS80	68	4,0	2,63
---	----	-----	------

Вміст агрегатів, oVMD, залишковий вміст води, T_g, cBD та SSA також вимірювали із застосуванням способів, описаних у попередніх прикладах. Результати аналізу властивостей порошку представлені у Табл. 22.

Таблиця 22

Властивості порошку сухих порошкоподібних складів,
що містять FAB₁ та різні (ваг./ваг.) кількості PS-80

% ваг./ваг. PS80		0 %	0,27 %	0,67 %	1,33 %	2,00 %	2,67 %
HP-SEC	% MPP	99,3	99,3	99,5	99,5	99,5	99,4
	% агрегатів	0,1	0,1	0,2	0,2	0,1	0,1
oVMD	d10 (мкм)	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
	d50 (мкм)	1,8	1,8	1,8	1,7	1,2	1,5
	d90 (мкм)	4	3,9	4,0	3,9	2,9	4,6
	Охоплення	1,9	1,9	2,0	2,0	2,1	2,7
Остаточна вода (%)		1,6	1,6	1,7	1,9	1,9	0,4
T _g	У відкритому стані (°C)	123	124	121	121	121	124
	У закритому стані (°C)	99	98	96	95	96	115
cBD (г/см ³)		0,58	0,60	0,59	0,59	н. в.*	0,55
SSA (м ² /г)		4,60	5,02	4,37	4,05	н. в.	4,24

*н. в. - не визначено

Аналіз показує, що властивості порошку багато в чому еквівалентні контрольному складу незалежно від % (ваг./ваг.) кількості PS-80.

Потім склади, описані у Табл. 22 аналізували відносно вмісту невидимих неозброєним оком частинок (SVP). Кількість невидимих неозброєним оком частинок (SVP) вимірювали із використанням способу візуалізації мікропотоків (MFI). MFI поєднує мікрофлюїдну проточну мікроскопію та аналіз частинок із візуалізацією високого дозволу для кількісної оцінки кількості SVP та групування цих значень у діапазоні розмірів частинок. Перед тестуванням зразки порошку розчиняли у воді та обережно збовтували для забезпечення рівномірного розподілу частинок, а потім завантажували у Protein Simple MFI 5200 (Каліфорнія, США). Результати представляли у вигляді кількості частинок різних розмірів (≤1 мкм, ≤2 мкм, ≤5 мкм, ≤10 мкм та ≤25 мкм) на мл. На Фіг. 14А показано, що включення 0,27 % (ваг./ваг.) PS-80 у складі сухого порошку знижує абсолютну кількість SVP на мл при розведенні. Зниження кількості SVP знижується у разі зростання концентрації PS-80. Значні зниження SVP спостерігали при додаванні 0,67 % (ваг./ваг.) PS-80 із незначною кількістю SVP із діаметром частинок більше 5 мкм. Тенденцію спостерігали, коли склад розводили до концентрації 30 мг/мл FAB₁ або 2,5 мг/мл FAB₁ (Фіг. 14В).

Характеристику складу та аналіз SVP проводили, як описано вище для другого складу, що містить допоміжну речовину. У даному дослідженні як допоміжну речовину використовували полоксамер 188, на відміну від PS-80.

Досліджували кілька % ваг./ваг. кількостей полоксамеру 188. Композиції складу та параметри способу отримання кожної партії складів були такими, як описано у Табл. 20 складів, що містять PS-80. Кількість трегалози модифікували для того, щоб компенсувати кількість полоксамеру 188, що варіює. Вміст агрегатів, oVMD, залишковий вміст води, T_g, cBD та SSA також вимірювали із застосуванням способів, описаних у попередніх прикладах. Результати аналізу властивостей порошку представлені у Табл. 23.

Таблиця 23

Властивості порошку сухих порошкоподібних складів,
що містять FAB₁ та різні (ваг./ваг.) кількості полоксамеру-188

% ваг./ваг. P-188		0	0,67 %	1 %	1,67 %	2,67	10 %
HP-SEC	% MPP	99,3	99,5	99,3	99,5	99,5	99,3
	% агрегатів	0,1	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2

oVMD	d10 (мкм)	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
	d50 (мкм)	1,8	1,9	1,8	1,8	1,7	1,8
	d90 (мкм)	4,0	4,2	3,9	4,2	4,1	4,3
	Охоплення	1,9	2,0	1,9	2,1	2,1	2,1
Остаточна волога (%)		1,6	1,3	1,9	1,2	1,2	1,5
Tg	У відкритому стані (°C)	123	122	121	123	123	122
	У закритому стані (°C)	99	102	94	103	103	98
сBD (г/см ³)		0,58	0,60	0,57	0,67	0,75	н. в.*
SSA (м ² /г)		4,60	н. в.	4,71	н. в.	4,45	н. в.

*н. в. - не визначено

Аерозольні властивості складів полуксамеру-188 також аналізували із використанням способів, розкритих у Прикладі 7. Результати представлені у Табл. 24.

Таблиця 24

Функціональні характеристики аерозолію складів, що містять полуксамер-188 (P188)

Опис	% FPF (< 5,0 мкм)	FPM (< 5,0 мкм) (мг)	MMAD (мкм)
40 % FAB ₁ , контроль	78	5,5	2,55
40 % FAB ₁ , 0,67 % ваг./ваг. P188	67	4,5	2,61
40 % FAB ₁ , 1 % ваг./ваг. P188	86	5,4	2,82
40 % FAB ₁ , 1,67 % ваг./ваг. P188	66	4,2	2,76
40 % FAB ₁ , 2,67 % ваг./ваг. P188	70	4,6	2,91
40 % FAB ₁ , 10 % ваг./ваг. P188	56	3,0	3,41

Склади P188 аналізували відносно вмісту SVP із застосуванням способів, описаних вище. На Фіг. 15A показано, що включення 0,67 % (ваг./ваг.) P188 у складі сухого порошку знижує абсолютну кількість SVP на мл при розведенні. Тенденцію спостерігали, коли склад розводили до концентрації 30 мг/мл FAB₁ (Фіг. 15A) або 2,5 мг/мл FAB₁ (Фіг. 15B).

ПРИКЛАД 11. ХАРАКТЕРИСТИКА СКЛАДІВ ЛЕЙЦИН/ТРИЛЕЙЦИН, що містять 1,1 % (ВАГ./ВАГ.) PS-80

У цьому прикладі аналізували властивості порошку сухого порошкоподібного складу, що містить або 1 %, або 40 % (ваг./ваг.) Fab₁ та 1,1 % (ваг./ваг.) PS-80. Повні композиції складів показані у Табл. 25. Склади виготовляли, як описано в Прикладі 6.

Таблиця 25

Вагові кількості допоміжних речовин у сухих порошкоподібних складах, що містять 1,1 % (ваг./ваг.) PS-80, та або 40 % (ваг./ваг.), або 1 % (ваг./ваг.) Fab₁

	Fab ₁ 40 % (ваг./ваг.)	Fab ₁ 1 % (ваг./ваг.)
Трилейцин	2	2
Лейцин	10,5	10,5
Трегалоза	37,9	76,9
Цитратний буфер	8,5	8,5

Стабільність складів аналізували після зберігання протягом одного або трьох місяців при 40 °C та відносній вологості 75 % (40/75) або 25 °C та відносній вологості 60 % (25/60). Тестували розподіл частинок за розмірами, вміст води та шорсткість поверхні. На Фіг. 16A та B зображено, що вміст води та розподіл частинок за розмірами залишалися стабільними із часом для складів, що містять 40 % (ваг./ваг.) Fab₁. На Фіг. C зображено, що морфологія частинок залишається незмінною із часом. На Фіг. 17A та 17B зображено, що вміст води та розподіл частинок за розмірами залишалися стабільними із часом для складів, що містять 1 % (ваг./ваг.) Fab₁. На Фіг. 17C зображено, що морфологія частинок залишається незмінною із часом.

Аналізували утворення SVP при розведенні після зберігання або в умовах 40/75 протягом 1 або 3

місяців, або в умовах 25/60 протягом 3 місяців. Аналіз проводили, як описано у Прикладі 8. На Фіг. 18А показано, що при розведенні 40 % (ваг./ваг.) Fab₁ до концентрації Fab₁, що становить 30 мг/мл, кількість SVP, що утворюються при кожній умови, залишається незмінною. На Фіг. 18В показано, що при розведенні 1 % (ваг./ваг.) Fab₁ до концентрації Fab₁, що становить 0,75 мг/мл, кількість SVP, що утворюються при кожній умови, залишається незмінною.

Характеристики аерозолі також тестували після зберігання. Результати представлені у Табл. 26 та 27.

Таблиця 26

Функціональні характеристики аерозолі складів,
що містять 40 % (ваг./ваг.) Fab₁ та 1,1 % (ваг./ваг.) PS-80 невідкладно після виготовлення та після зберігання протягом 1 або 3 місяців в умовах 40/75 або протягом 3 місяців в умовах 25/60

	T = 0	1 міс. 40/75	3 міс. 40/75	3 міс. 25/60
% FPF (< 5 мкм)	81	87	77	78
FPM (< 5 мкм) (мг)	5,2	5,1	4,7	5,1
MMAD (мкм)	2,97	2,77	3,20	3,16
DD (%)	85	87	82	84

Таблиця 27

Функціональні характеристики аерозолі складів,
що містять 1 % (ваг./ваг.) Fab₁ та 1,1 % (ваг./ваг.) PS-80 невідкладно після виготовлення та після зберігання протягом 1 або 3 місяців в умовах 40/75 або протягом 3 місяців в умовах 25/60

	T=0	1 міс. 40/75	3 міс. 40/75	3 міс. 25/60
% FPF < (5 мкм)	79	79	73	73
FPM (< 5 мкм) (мг)	0,12	0,11	0,11	0,1
MMAD (мкм)	3,11	3,05	3,24	3,27
DD (%)	77	83	81	78

Відсоток доставленої дози (DD) також характеризували після зберігання кожного складу у кожній умови. Результати представлені у Табл. 26 та 27.

Активність Fab₁ у кожному зі складів, описаних у Табл. 25, також тестували після зберігання в умовах 40/75 протягом 1 або 3 місяців або в умовах 25/60 протягом 3 місяців.

Активність визначали із використанням гомогенної флуоресценції із тимчасовою роздільною здатністю (HTRF). HTRF поєднує технологію передачі енергії флуоресцентного резонансу (FRET) із вимірюваннями з тимчасовою роздільною здатністю (TR). Коли два флуорофори, донор та акцептор, перебувають у безпосередній близькості один від одного, збудження донора викликає передачу енергії акцептору, створюючи у такий спосіб сигнал FRET. У цьому аналізі стрептавідин-європію криплат, зв'язаний з біотинильованим TSLP людини, являє собою донор, а мічене d2 mAb до TSLP являє собою акцептор. FAB1 зв'язується із TSLP людини та попереджає зв'язування міченого mAb. Це, у свою чергу, призводить до збільшення відстані між донорними та акцепторними флуорофорами та призводить до зниження сигналу FRET.

Після оцінки паралелізму між еталонним стандартом та аналітичним контролем або між еталонним стандартом та тестованими зразками виконується апроксимація чотирипараметричної логістичної кривої (4PL) та розраховуються відносні активності контрольного та випробуваного зразків FAB₁ за допомогою поділу значення IC₅₀ еталонного стандарту на значення IC₅₀ аналітичного контролю або кожного тестованого зразка та множення на 100 %.

Рівні активності Fab₁ становили від 85 до 110 % активності Fab₁, розведеного невідкладно (тобто t=0) з еквівалентного складу.

Список літературних джерел:

Darling RJ, Brault PA. Assay and Drug Development Technologies. 2004;2:647-657

Gauvreau GM, O'Byrne PM, Boulet LP, et al. N Engl J Med 2014;370:2102-10

Tepper, JS, et al Int J Toxicol 2016;35: 376-92

Rennard, SI, et al J Appl Physiol 1986;60:532-538

Фахівцю у даній галузі техніки буде очевидно, що інші відповідні модифікації та адаптації способів та варіантів застосування, описаних у даному документі, можуть бути виконані без відхилення від

об'єму будь-якого із варіантів здійснення. Наступні приклади включені у даний документ тільки з ілюстративною метою та не призначені носити обмежувальний характер.

Слід розуміти, що хоча у даному документі були проілюстровані та описані певні варіанти здійснення, формула винаходу не повинна обмежуватися конкретними формами або розташуванням описаних та показаних частин. В описі були розкриті ілюстративні варіанти здійснення, і хоча використовуються конкретні терміни, вони використовуються тільки у загальному та описовому сенсі, а не з метою обмеження. Численні модифікації та варіанти здійснення можливі з погляду ідей, викладених у наведеному вище описі. Таким чином, слід розуміти, що варіанти здійснення можуть бути реалізовані іншим чином, ніж конкретно описано.

Хоча вище були описані різні варіанти здійснення, слід розуміти, що вони представлені тільки як ілюстрації та приклади способу за даним винаходом, а не як обмеження. Фахівцям у даній галузі техніки буде очевидно, що у них можуть бути внесені різні зміни у формі та деталях без відхилення від суті та об'єму способу даного винаходу. Об'єм вимог та об'єм даного винаходу не повинні обмежуватися будь-яким із вищеописаних аспектів, але повинні визначатися тільки відповідно до наступної формули винаходу та їх еквівалентів. Також буде зрозуміло, що кожна ознака кожного варіанту здійснення, що обговорюється у даному документі, та кожного посилання, що цитується у даному документі, може використовуватися у поєднанні з ознаками будь-якого іншого варіанта здійснення. Усі патенти та публікації, що обговорюються у даному документі, включені у даний документ через посилання у повному об'ємі.

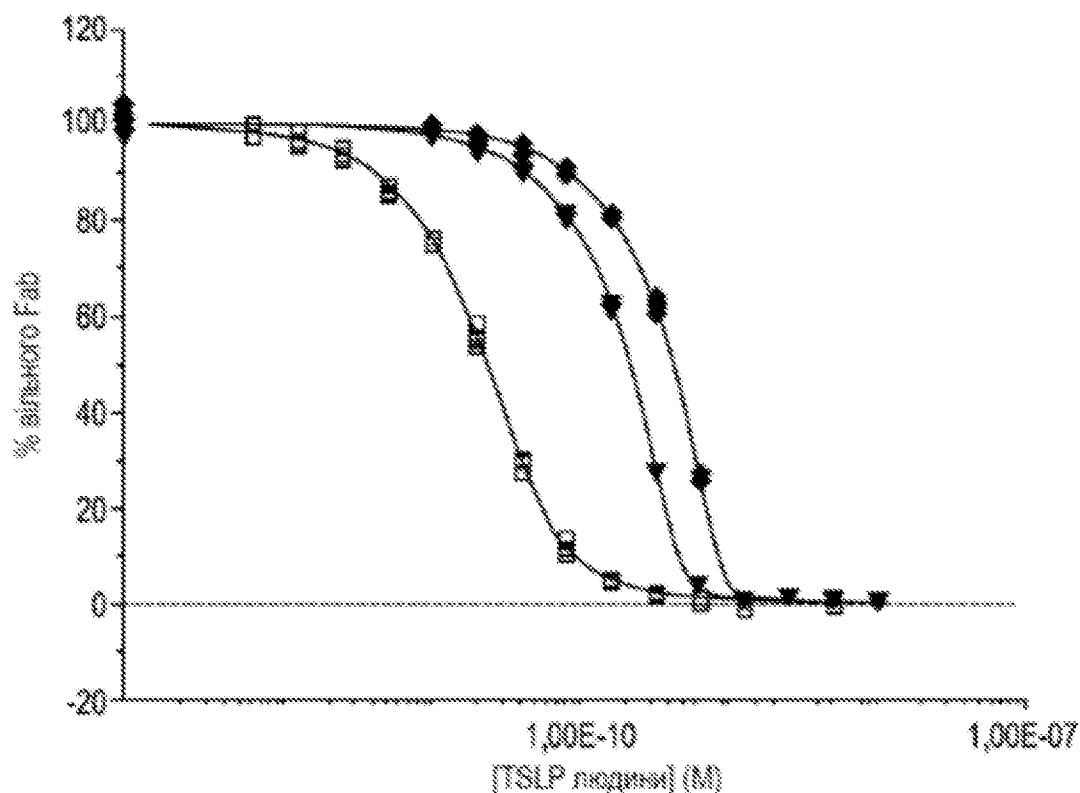
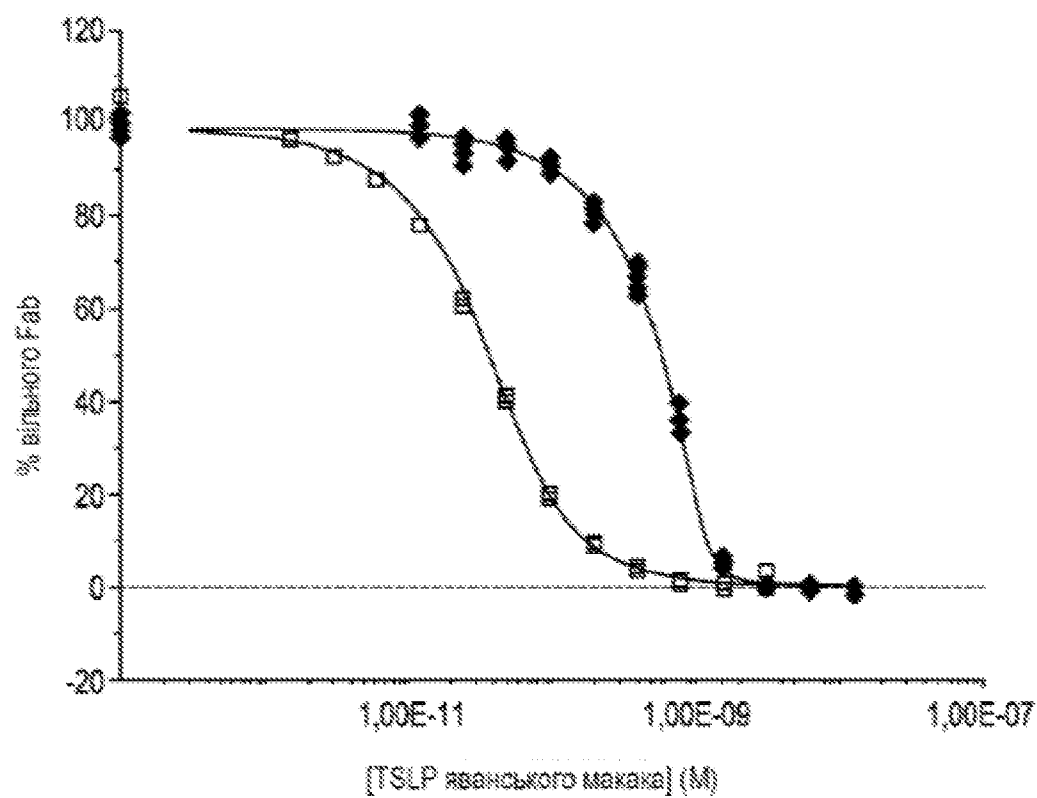
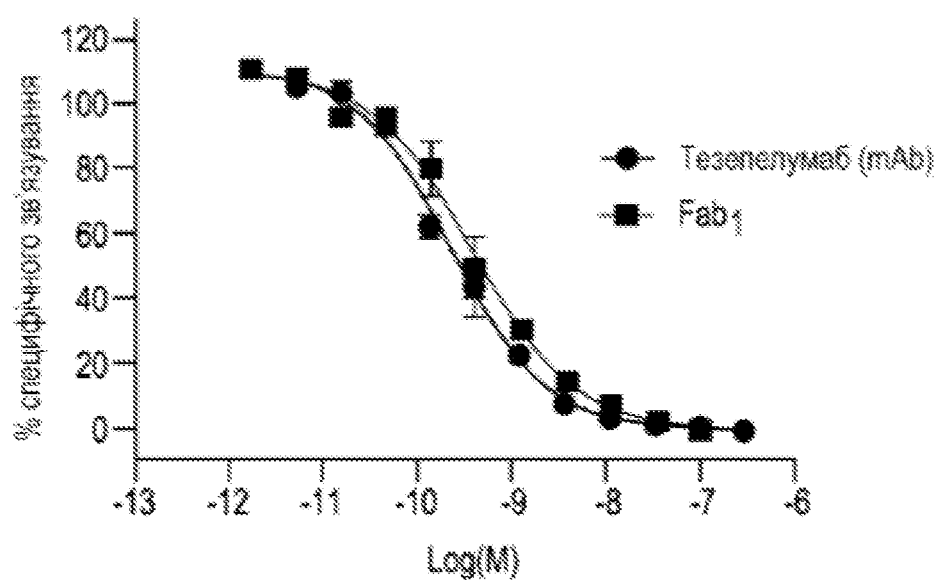


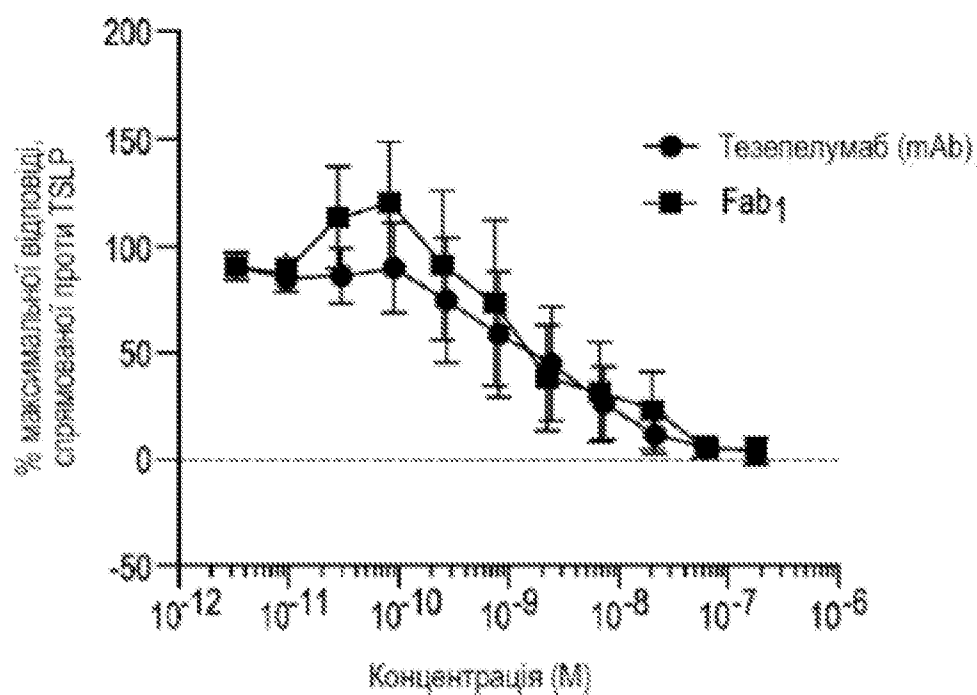
Fig. 1



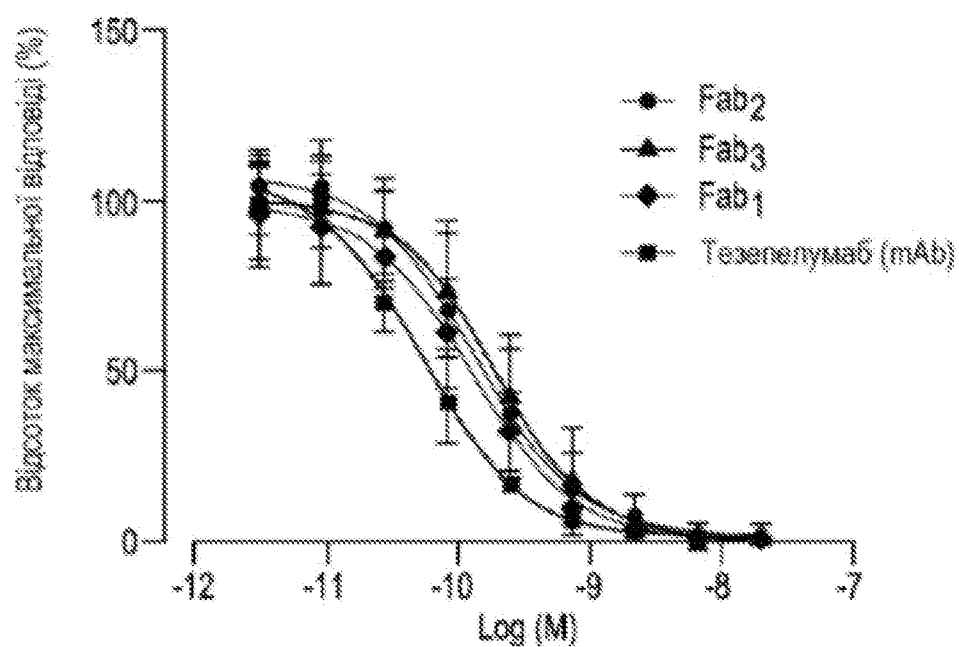
Фиг. 2



Фиг. 3

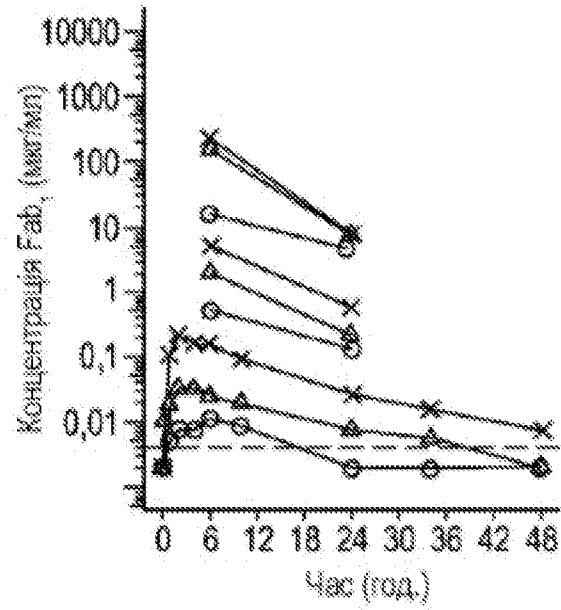


Фіг. 4



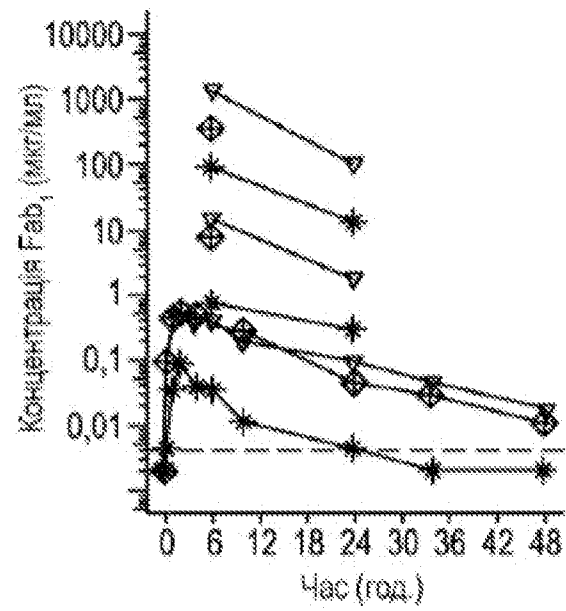
Фіг. 5

Група 1: 1 мг/кг



Фіг. 6А

Група 2 : 2 мг/кг



Фіг. 6В

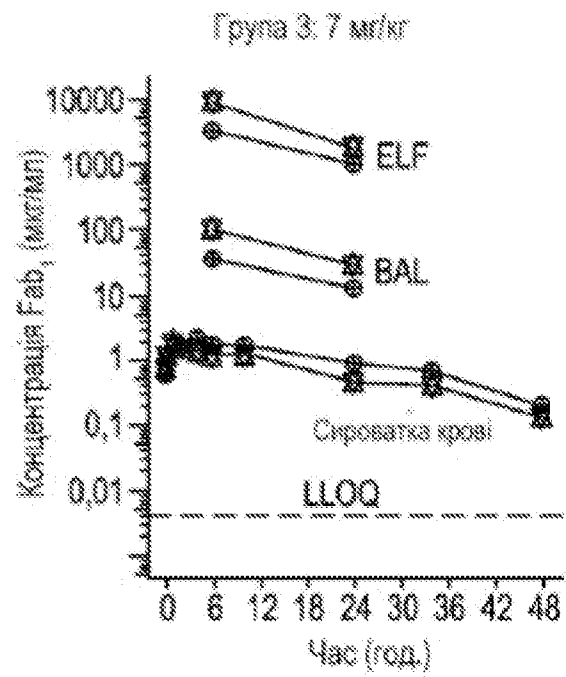


Fig. 6C

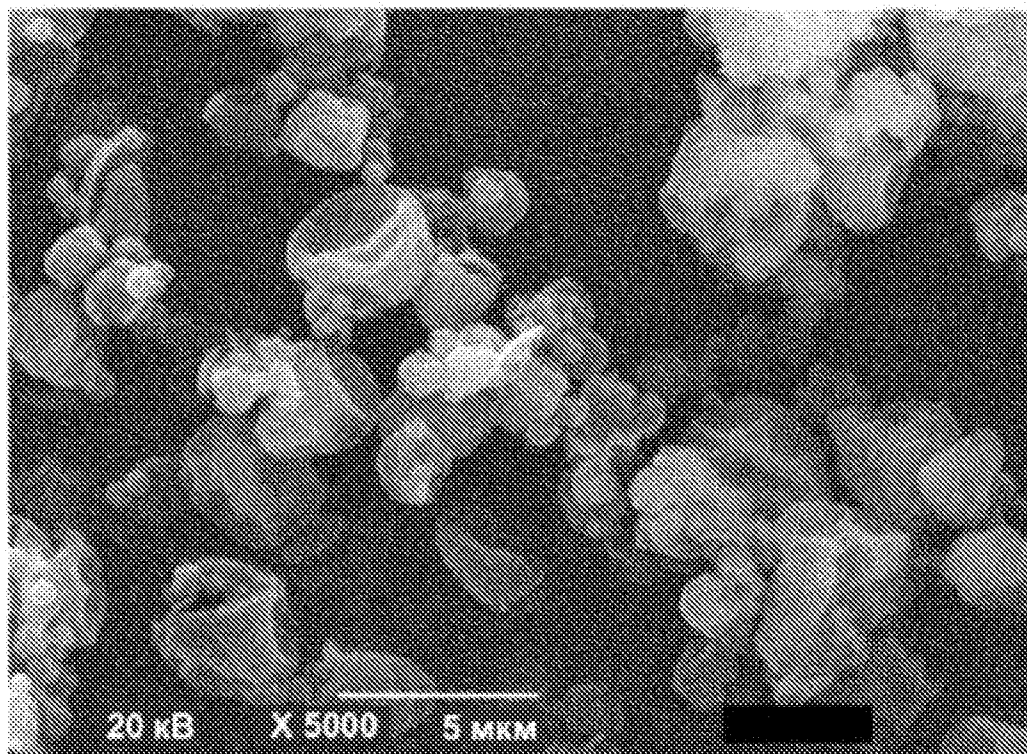
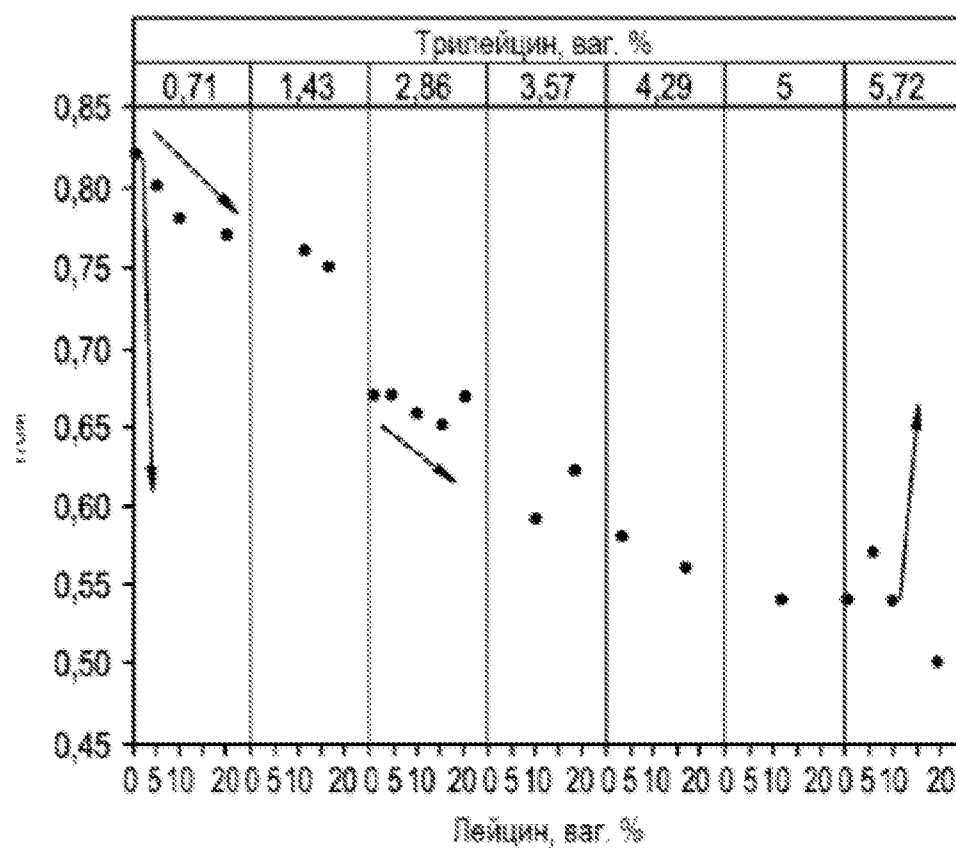
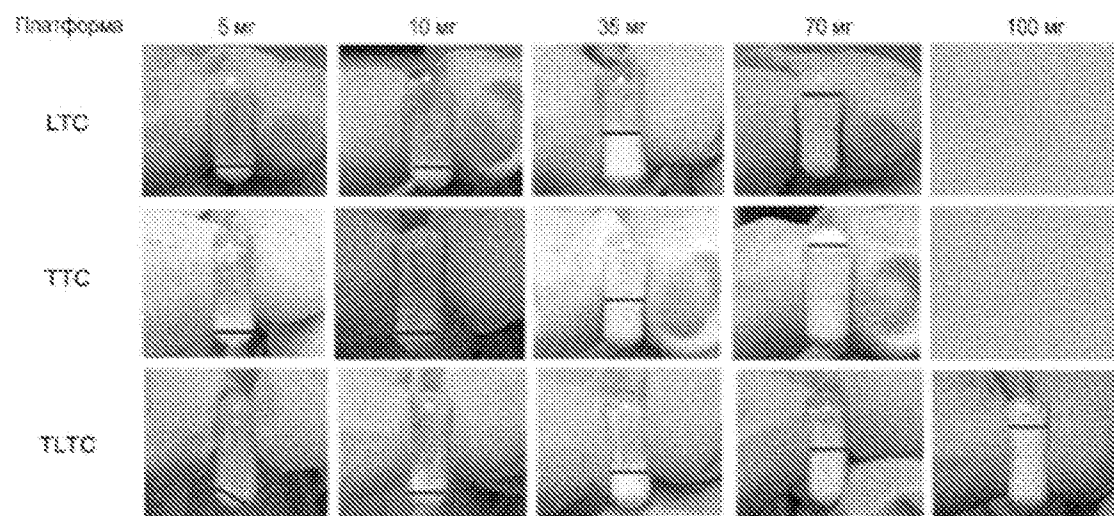


Fig. 7

сВD залежно від ваг. % лейцину



Фиг. 8A



Фиг. 8B

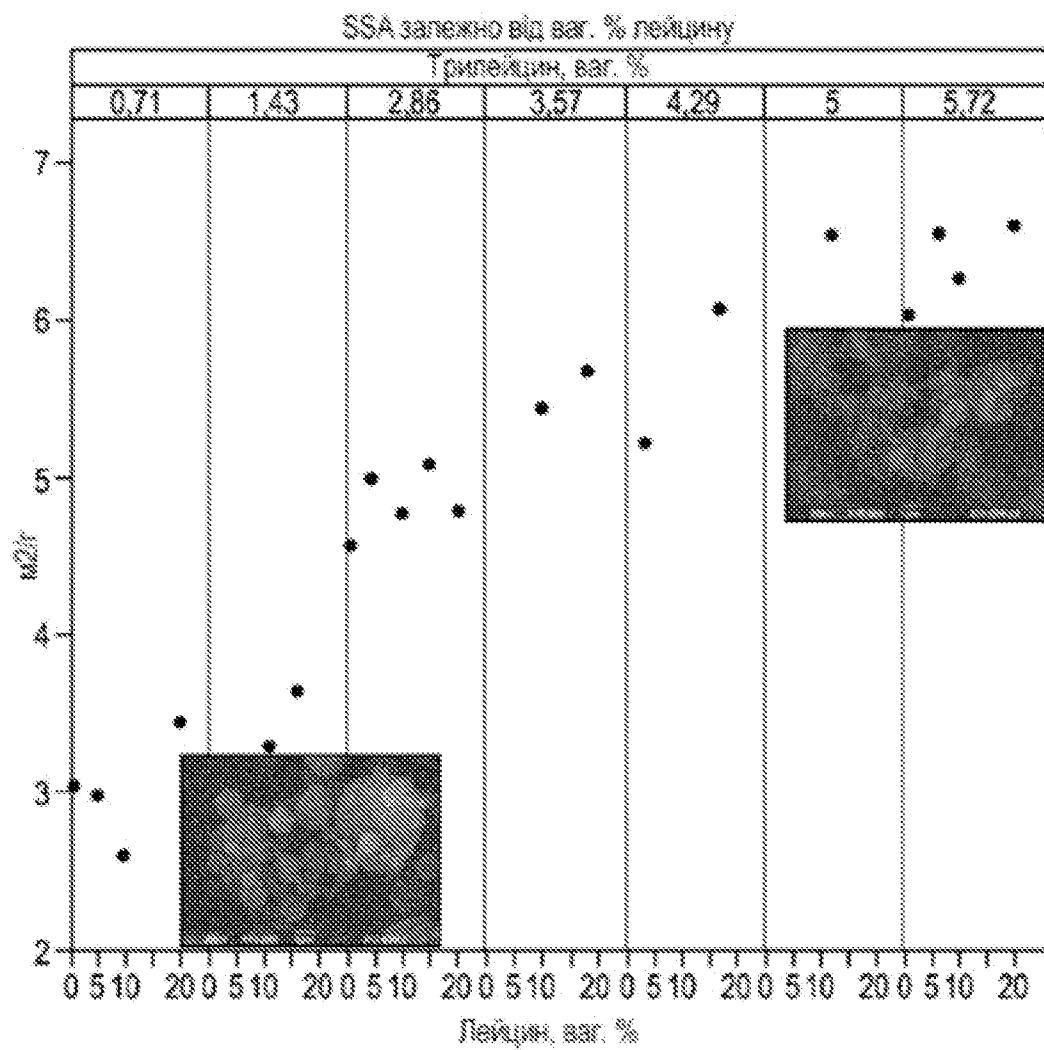


Fig. 9

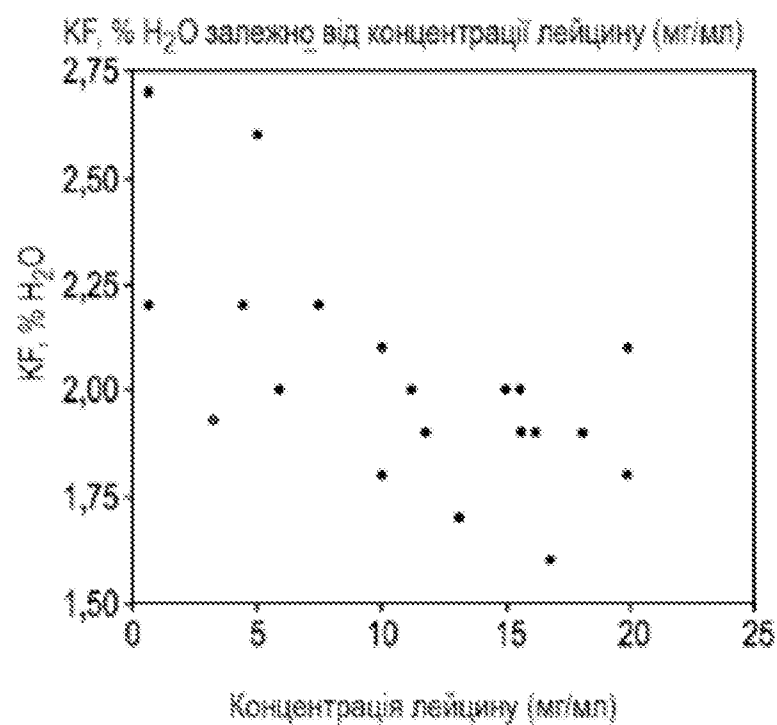


Fig. 10

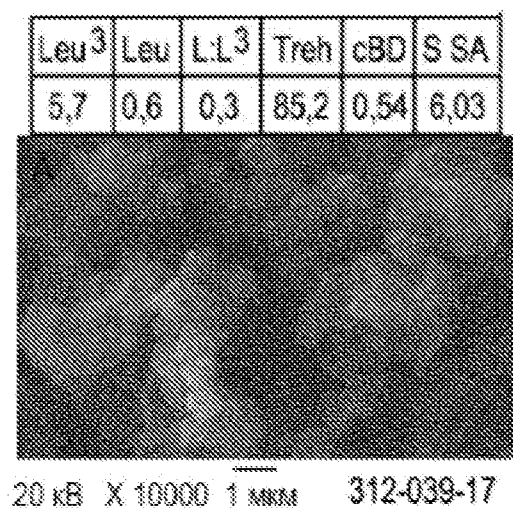
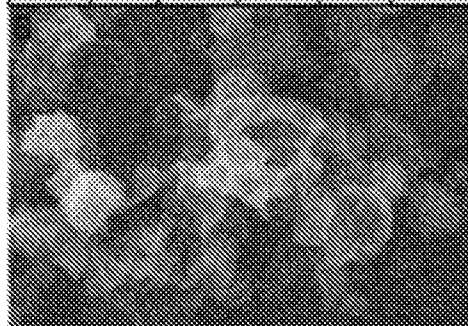


Fig. 11A

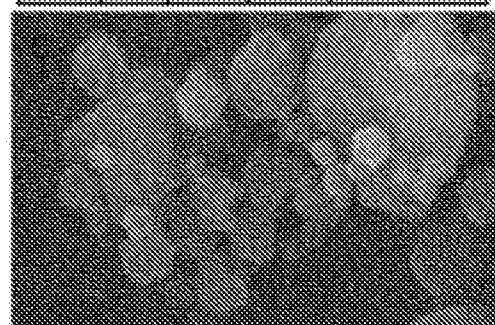
Leu ³	Leu	L:L ³	Treh	cBD	S SA
5,7	19,9	9,5	65,8	0,50	6,59



20 мВ X 10000 1 мкм 312-039-10

Фиг. 11В

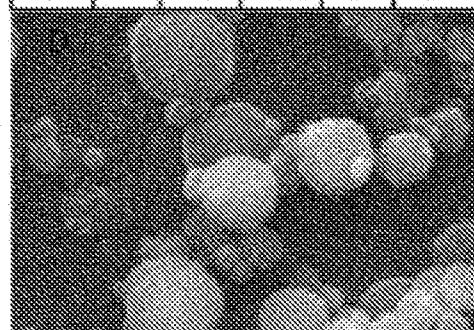
Leu ³	Leu	L:L ³	Treh	cBD	S SA
0,7	0,6	2,38	90,2	0,82	3,03



20 мВ X 10000 1 мкм 312-039-2

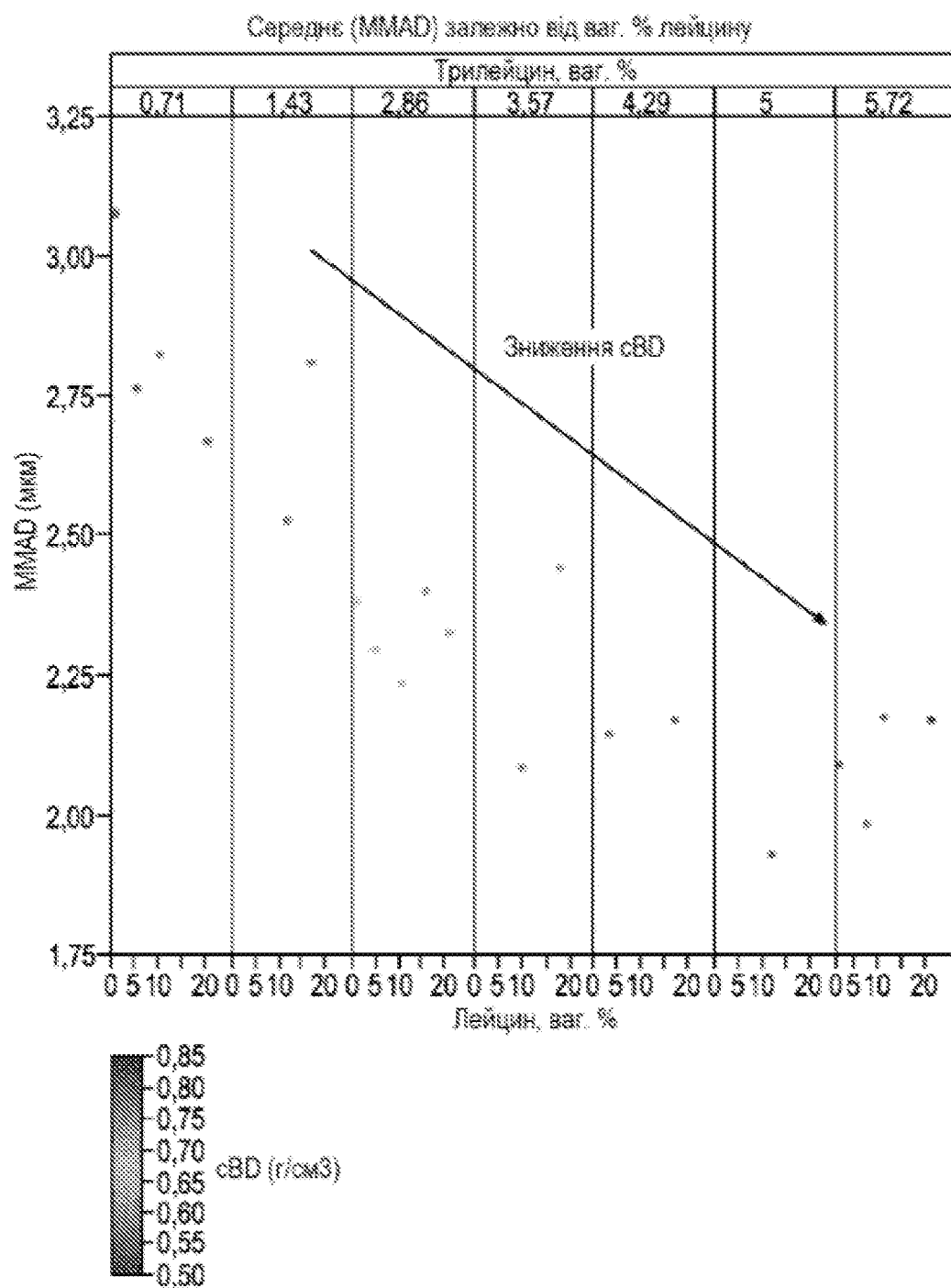
Фиг. 11С

Leu ³	Leu	L:L ³	Treh	cBD	S SA
0,7	19,9	76,0	70,8	0,77	3,44



20 кВ X 10000 1 мкм 312-039-04

Фиг. 11D



Фіг. 12

Середнє (відкладення на пристрої) залежно від ваг. % лейцину

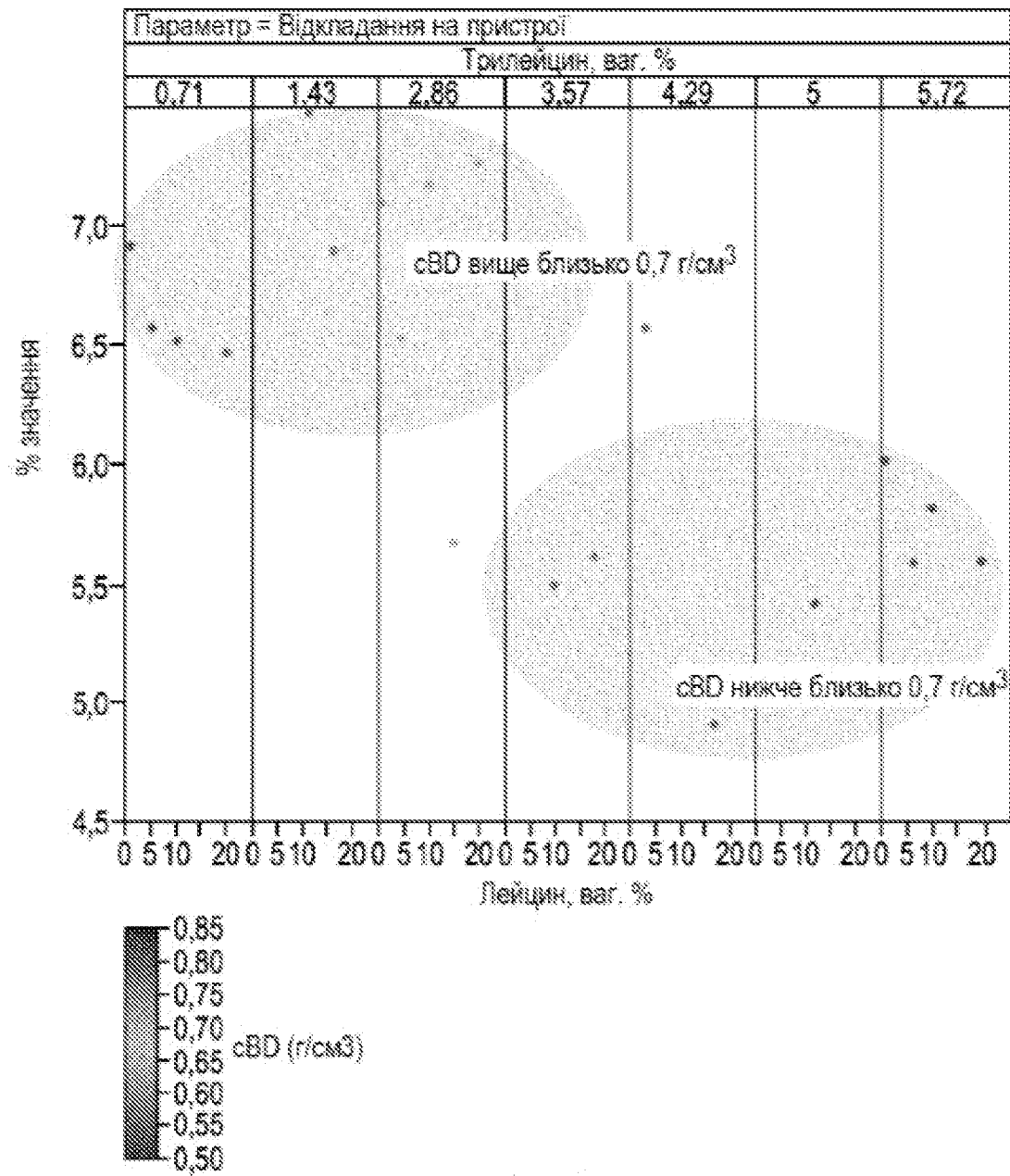


Fig. 13

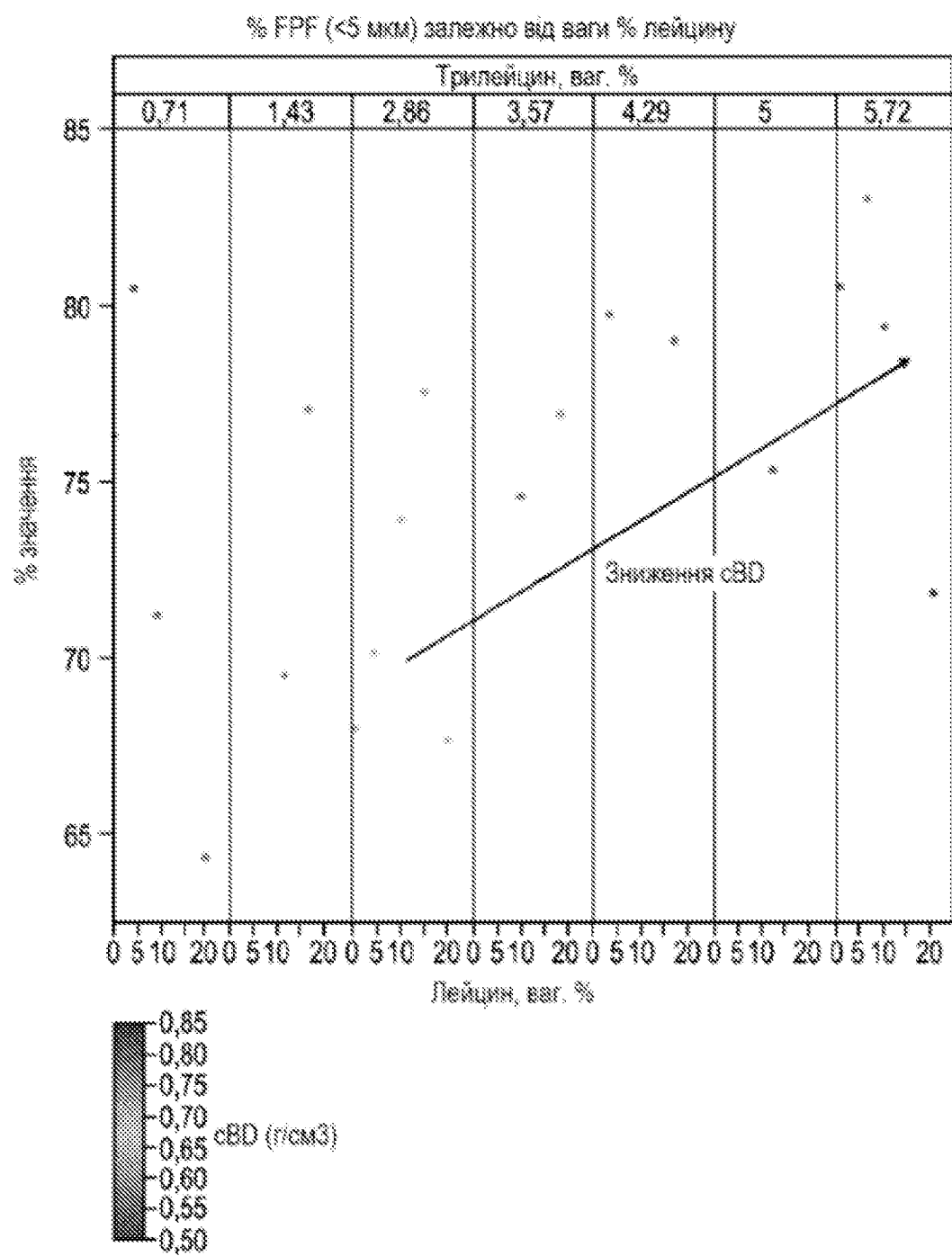
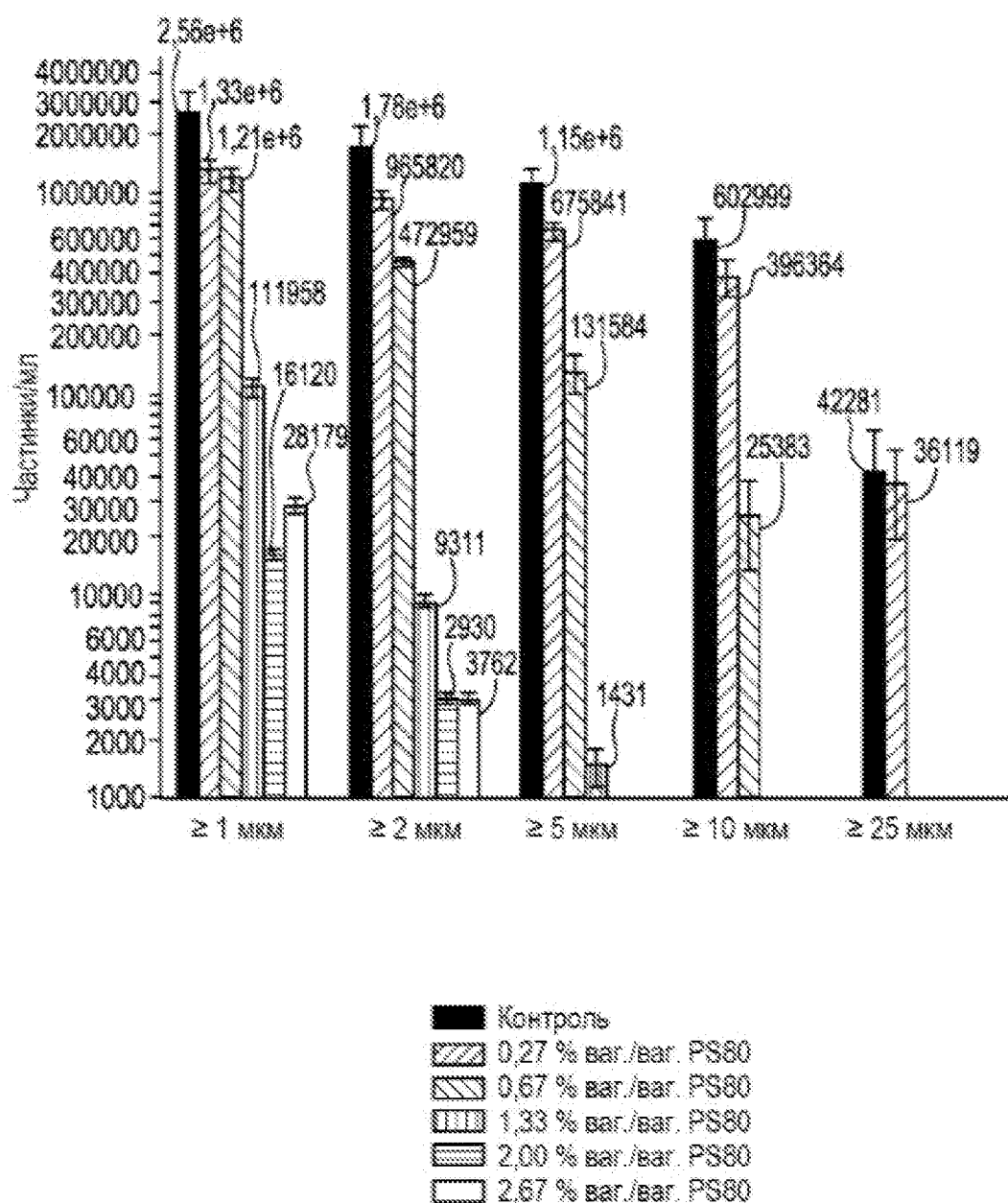


Fig. 14

30 мг/мл FAB₁



Фиг. 15А

2,5 мг/мл FAB₁

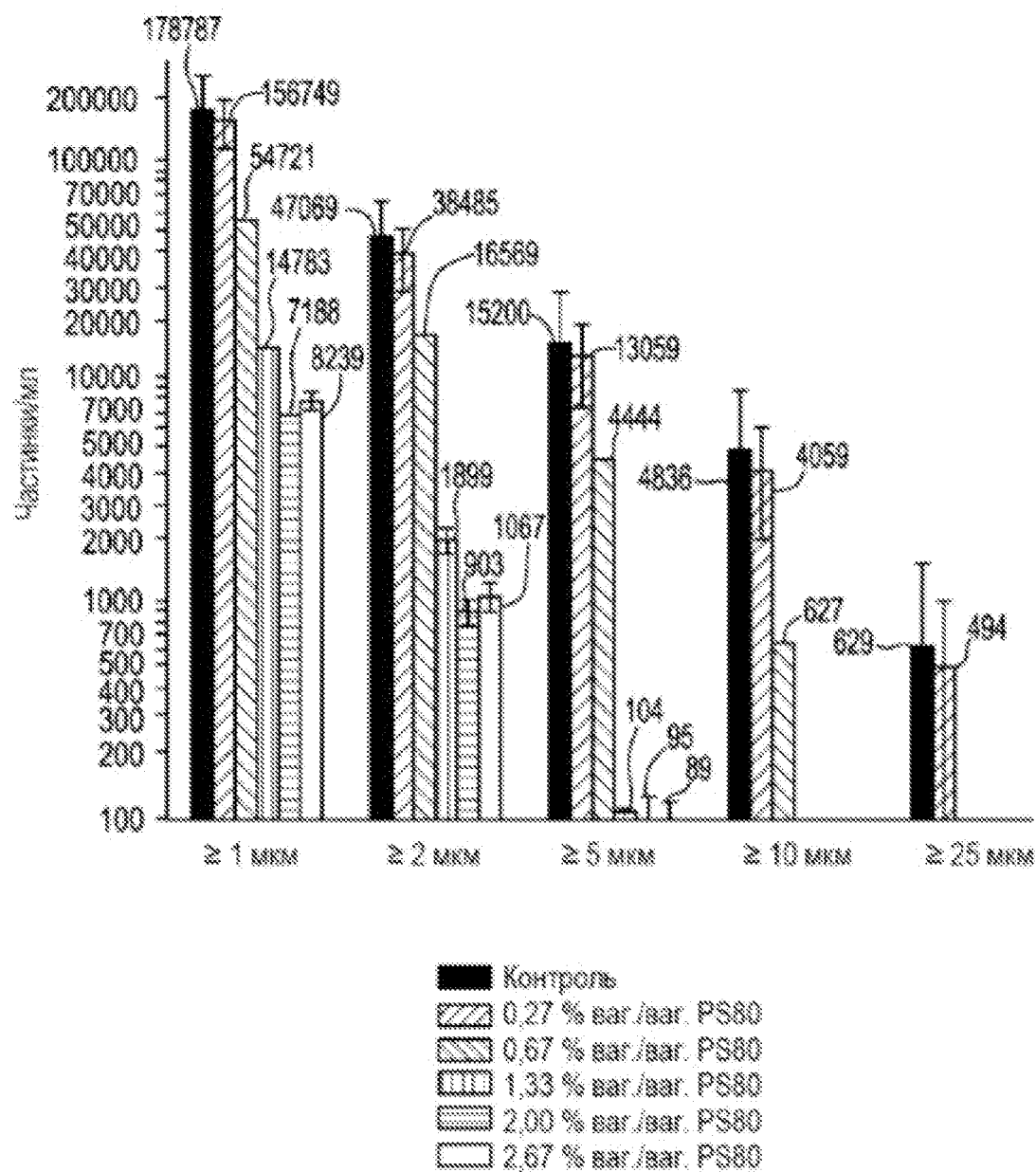


Fig. 15B

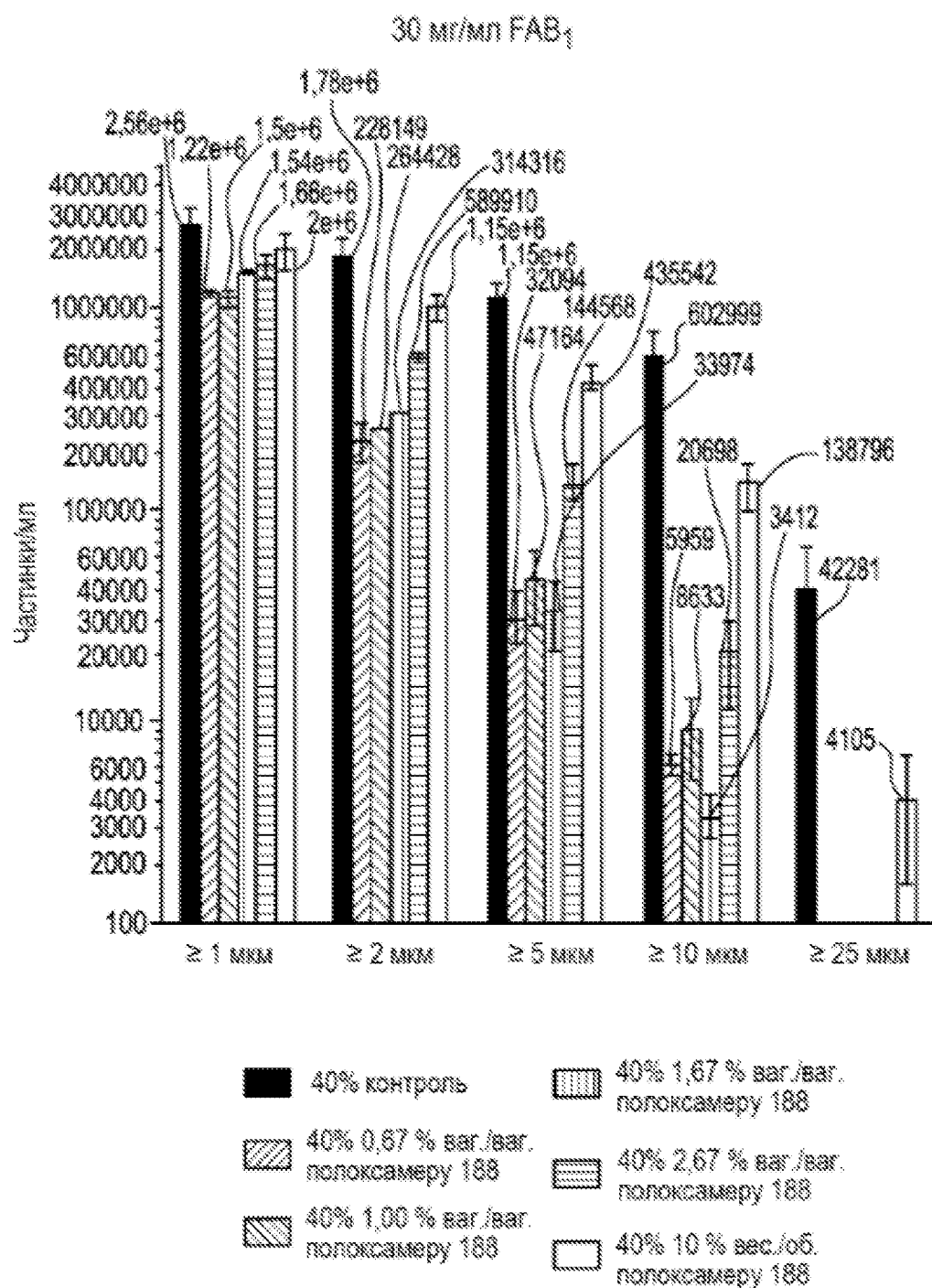


Fig. 16A

2,5 мг/мл FAB₁

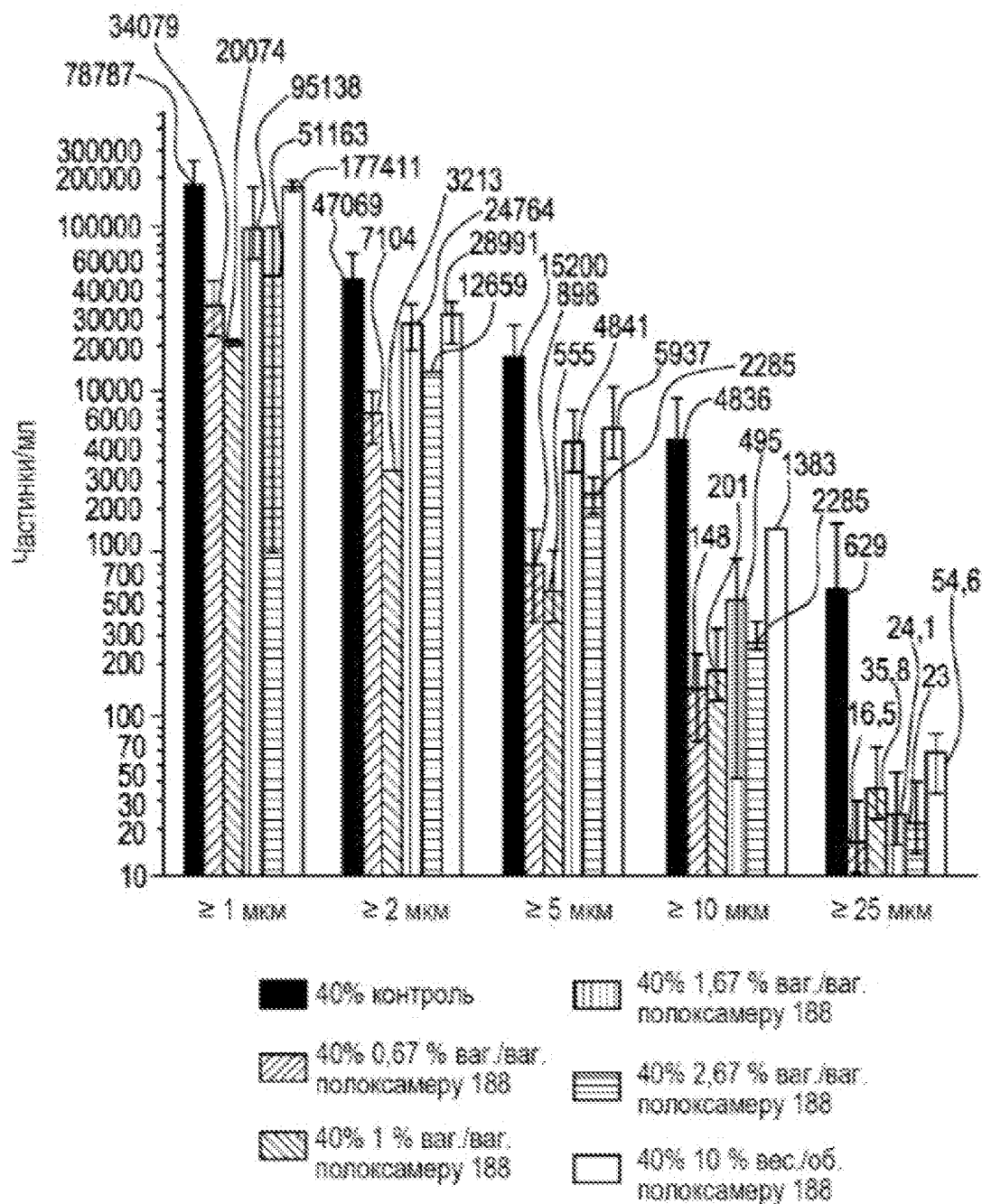


Fig. 16B

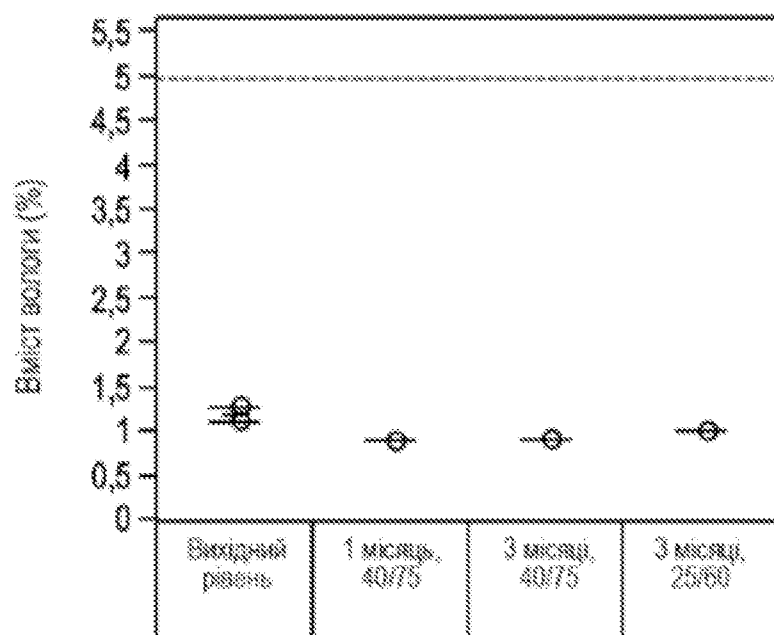


Fig. 17A

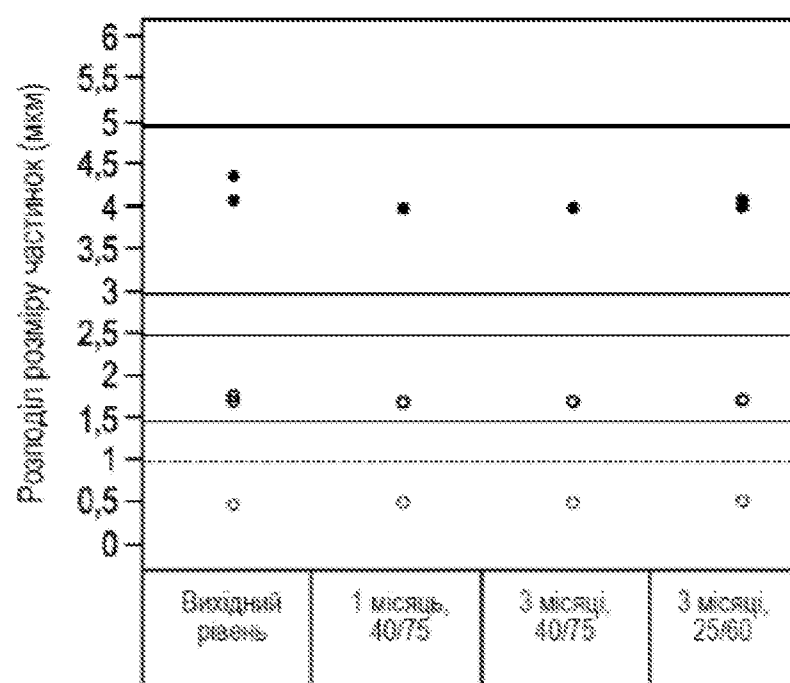
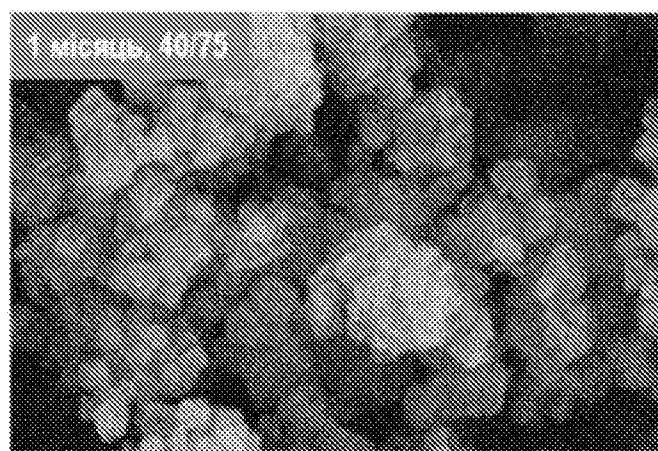
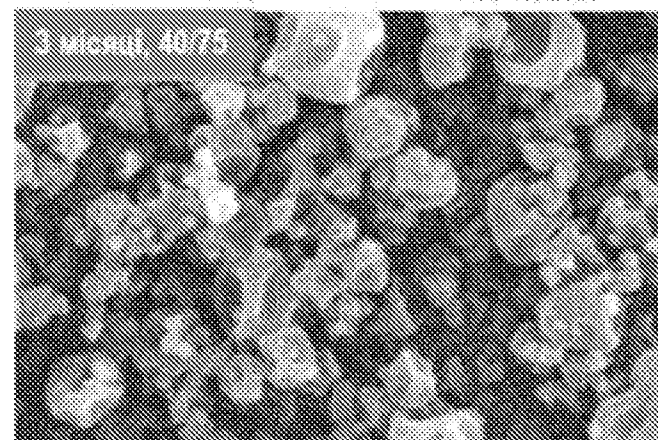


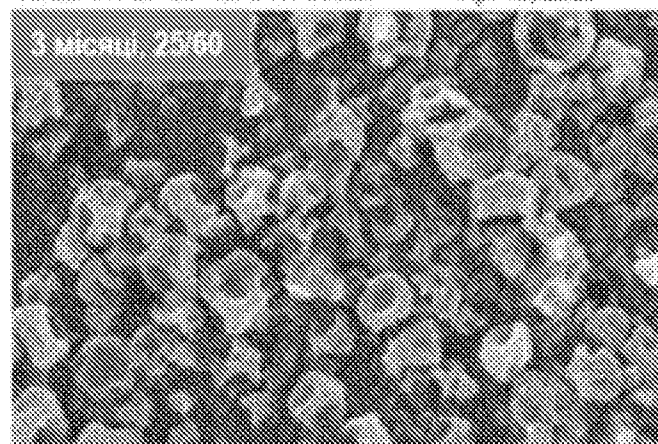
Fig. 17B



SED 20.0kV P.C.30 X5,000 5µm
19-ZS-111 BP 1mo 40,75 R1 5000x Feb 13, 2020

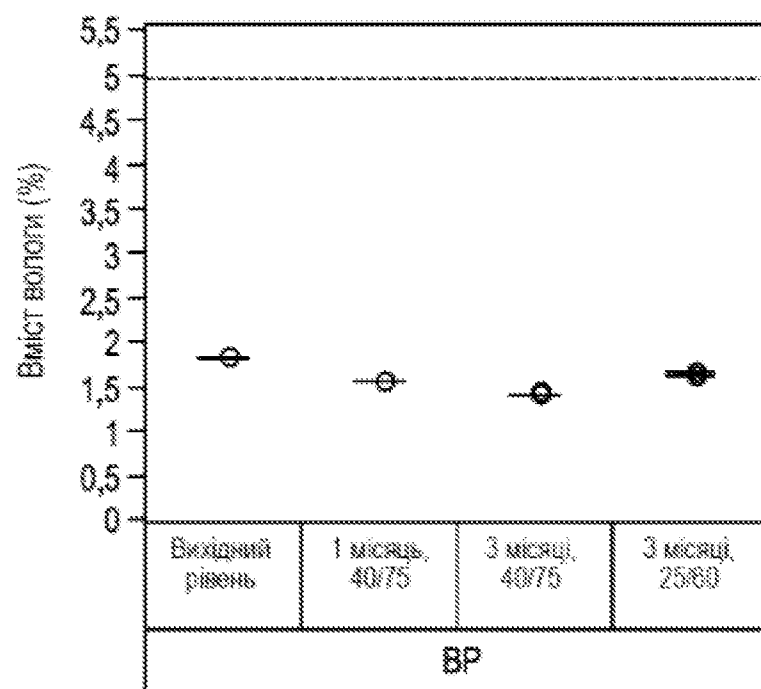


SED 20.0kV WD11mm P.C.50 X5,000 5µm
19-ZS-111 BP 3M 4075 R1 5000x Apr 15, 2020

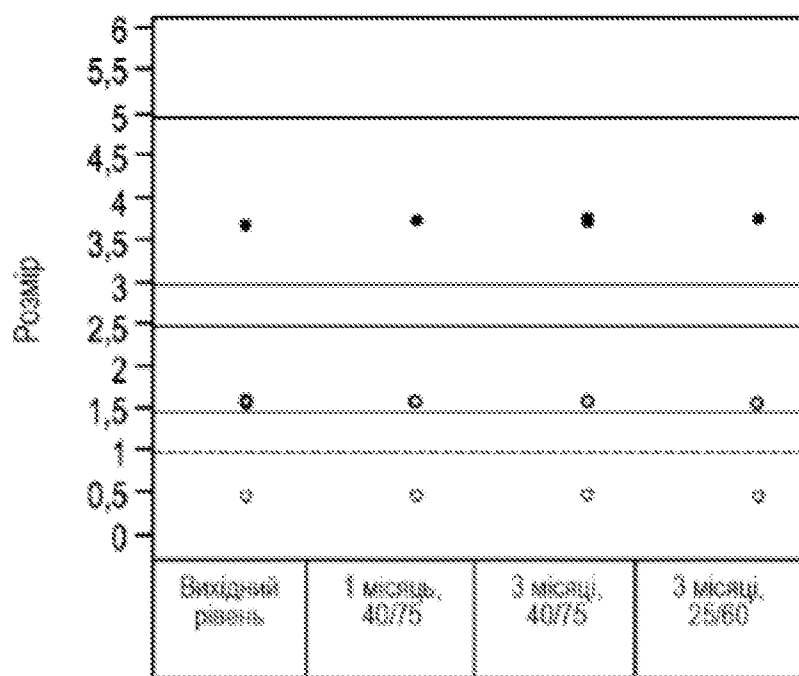


SED 20.0kV WD11mm P.C.50 X5,000 5µm
19-ZS-111 BP 3M 2575 R2 5000x Apr 15, 2020

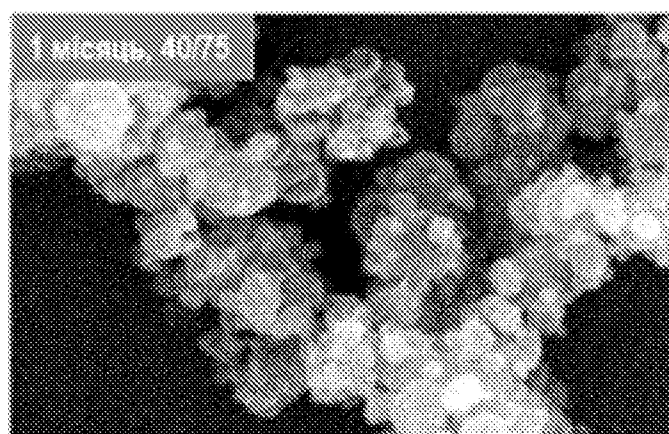
Фіг. 17С



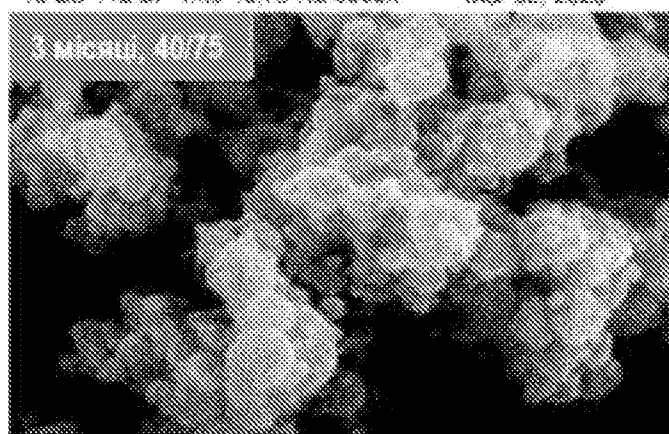
Фіг. 18А



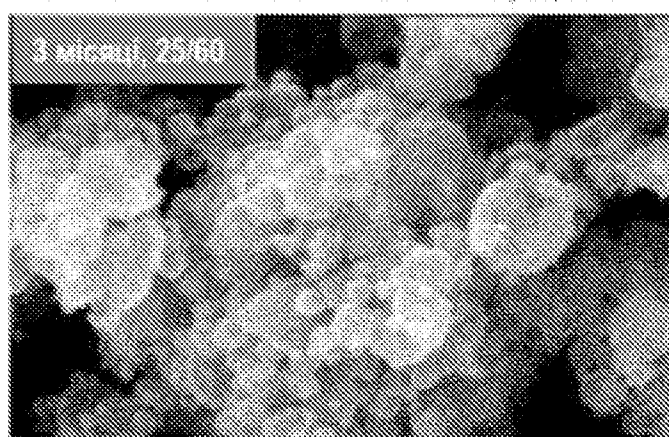
Фіг. 18В



SED 20.0kV WD11mm P.C.50 X5,000 5μm
19-ZS-112 BP 1mo 40/75 R2 5000x Mar 02, 2020

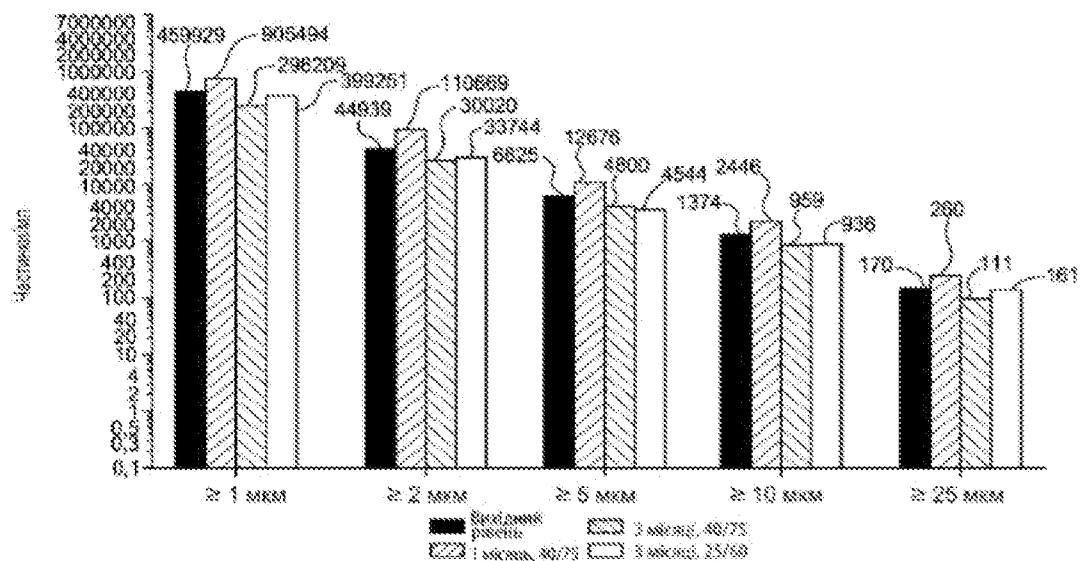


SED 20.0kV WD11mm P.C.50 X5,000 5μm
19-ZS-112BP 40C75RH 3M R2 5000x May 06, 2020

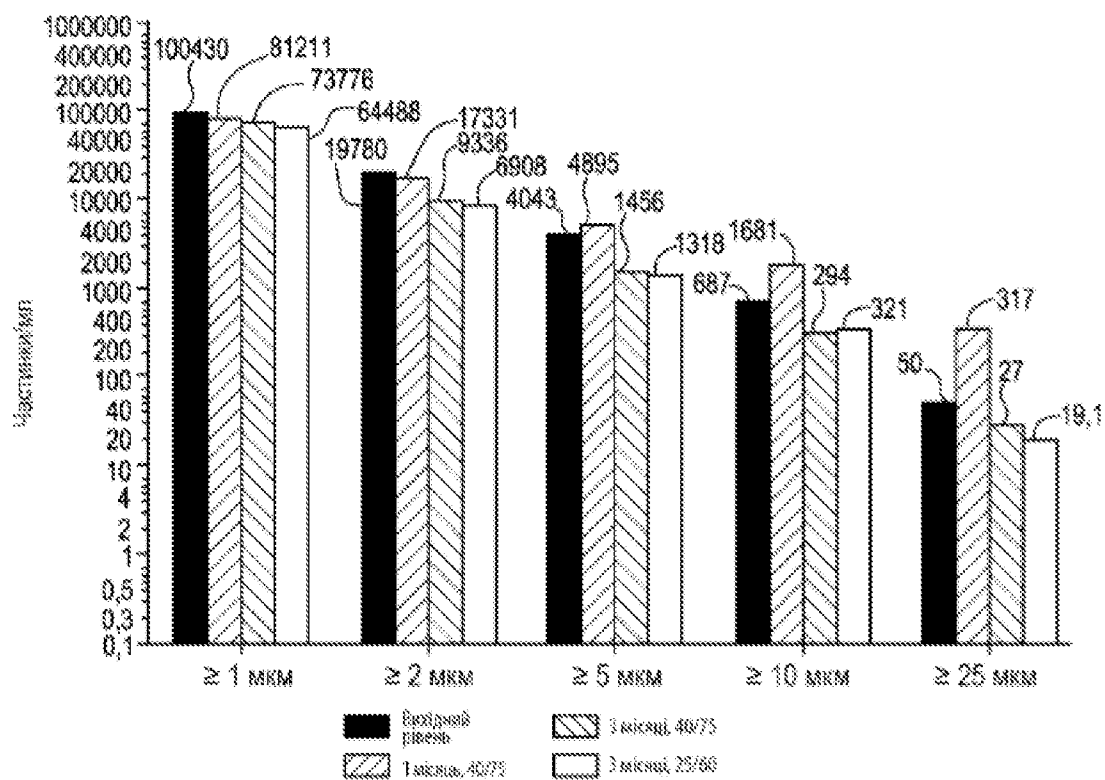


SED 20.0kV WD11mm P.C.50 X5,000 5μm
19-ZS-112BP 25C60RH 3M R1 5000x May 06, 2020

Фиг. 18С



Фиг. 19А



Фиг. 19В

ПЕРЕЛІК ПОСЛІДОВНОСТЕЙ

<110> MEDIMMUNE LIMITED

<120> Суші порешкоподібні силалли антитіл, що зв'язують гематичний стромальний лімфопоетин (TSLP), та способи їх застосування

<130> 200902-WO-PCT

<160> 31

<170> PatentIn версія 3.5

<210> 1

<211> 5

<212> ELTOK

<213> Homo sapiens

<220>

<221> MISC FEATURE

<223> FAb1 HCDR1

<400> 1

Thr Tyr Gly Met His
1 5

<210> 2

<211> 17

<212> ELTOK

<213> Homo sapiens

<220>

<221> MISC FEATURE

<223> FAb1 HCDR2

<400> 2

Val Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Lys His Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 3

<211> 13

<212> ELTOK

<213> Homo sapiens

<220>

<221> MISC FEATURE

<223> FAb1 HCDR3

<400> 3

Ala Pro Gln Trp Glu Leu Val His Glu Ala Phe Asp Ile
1 5 10

<210> 4
<211> 122
<212> ELLOK
<213> Homo sapiens

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> FABI VH BAKKOGO JAHUJOGA

<400> 4

Gln Met Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15

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

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

Ala Val Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Lys His Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

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

Ala Arg Ala Pro Gln Trp Glu Leu Val His Glu Ala Phe Asp Ile Trp
100 105 110

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

<210> 5
<211> 11
<212> ELLOK
<213> Homo sapiens

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> FABI LCDRI

<400> 5

Gly Gly Asn Asn Leu Gly Ser Lys Ser Val His
 1 5 10

<210> 6
 <211> 7
 <212> ELTOK
 <213> Homo sapiens

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> FAb1 LCDR2

<400> 6

Asp Asp Ser Asp Arg Pro Ser
 1 5

<210> 7
 <211> 11
 <212> ELTOK
 <213> Homo sapiens

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> FAb1 LCDR3

<400> 7

Gln Val Trp Asp Ser Ser Ser Asp His Val Val
 1 5 10

<210> 8
 <211> 108
 <212> ELTOK
 <213> Homo sapiens

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> VL ЛЕГКОГО ЛАНИЦЮГА

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> FAb1 VL ЛЕГКОГО ЛАНИЦЮГА

<400> 8

Ser Tyr Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ala Pro Gly Gln
 1 5 10 15

Thr Ala Arg Ile Thr Cys Gly Gly Asn Asn Leu Gly Ser Lys Ser Val
 20 25 30

His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Val Tyr
 35 40 45

Asp Asp Ser Asp Arg Pro Ser Trp Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser
 50 55 60

Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Arg Gly Glu Ala Gly
 65 70 75 80

Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Asp Ser Ser Ser Asp His
 85 90 95

Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
 100 105

<210> 9
 <211> 366
 <212> ДНК
 <213> Homo sapiens

<220>
 <221> misc feature
 <223> FABI ВАРІАБЕЛЬНОГО ДОМЕНА ВАЖКОГО ЛАНЦЮГА

<400> 9
 cagatgcagt tgggtgaatc tggtagcgcc gtggtgcagc ctggcagalc tctgagactg 60
 tctgtgccc cctcgggctt cacttcaga acctacggaa tgcactgggt ccgacaggcc 120
 cctggcaaa gattggaatg ggtgcgcgtg atttggtacg acggcttcaa caagcactac 180
 gcgcactccg tgaagggcag attcaccalc accagagaca actccaagaa cactctgaac 240
 ctgcagatga actcctgag agctgaggac accgcctgtt actattgtgc tagagccctt 300
 cagtggaaac tctgtcatga ggccttgac atctggggcc agggacaact ggtcacctgc 360
 tctcca 366

<210> 10
 <211> 324
 <212> ДНК
 <213> Homo sapiens

<220>
 <221> misc feature
 <223> FABI ВАРІАБЕЛЬНОГО ДОМЕНА ЛЕГКОГО ЛАНЦЮГА

<400> 10
 tcatatgttc ttacacaacc accgtgggtt tgggtgctc caggacaacc agctcgatt 60

acatgcggag gaacaaact cggatcgaag tgggtcaat ggtatcaaa aaagccagga 120
 caagctccag ttctcgtggt gtacgatgat tcagatcac catcatggat cccagagcga 180
 ttctcaggat caaactcggg aaatactgac acgtcacaa tticacggg agaagcggga 240
 gatgaagctg attactattg ccaagtgtgg gactcgtcgt cagatcatgt tgttttcgga 300
 ggtggaacaa agctcacagt gctc 324

<210> 11
 <211> 11
 <212> БЛТОК
 <213> Homo sapiens

<220>
 <221> MISC FEATURE
 <223> FAB2 LCDR1

<400> 11

Gly Gly Asn Asn Ile Gly Ser Lys Ser Val His
 1 5 10

<210> 12
 <211> 108
 <212> БЛТОК
 <213> Homo sapiens

<220>
 <221> MISC FEATURE
 <223> FAB2 ЛЕГКОГО ЛАНИЦЮГА

<220>
 <221> MISC FEATURE
 <223> FAB2 VL ЛЕГКОГО ЛАНИЦЮГА

<400> 12

Ser Tyr Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ala Pro Gly Gln
 1 5 10 15

Thr Ala Arg Ile Thr Cys Gly Gly Asn Asn Ile Gly Ser Lys Ser Val
 20 25 30

His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Val Tyr
 35 40 45

Asp Asp Ser Asp Arg Pro Ser Trp Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser
 50 55 60

Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Arg Gly Glu Ala Gly

65 70 75 80

Asp Gln Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Asp Ser Ser Ser Asp His
 85 90 95

Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
 100 105

<210> 13
<211> 11
<212> BLIHK
<213> Homo sapiens

<220>
<221> MISC FEATURE
<223> FAB3 LCDR1

<400> 13

Gly Gly Asn Asn Val Gly Ser Lys Ser Val His
1 5 10

<210> 14
<211> 108
<212> BLIHK
<213> Homo sapiens

<220>
<221> MISC FEATURE
<223> FAB3 ЛЕГКОГО ЛАНЦЮГА

<220>
<221> MISC FEATURE
<223> FAB3 VL ЛЕГКОГО ЛАНЦЮГА

<400> 14

Ser Tyr Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ala Pro Gly Gln
1 5 10 15

Thr Ala Arg Ile Thr Cys Gly Gly Asn Asn Val Gly Ser Lys Ser Val
 20 25 30

His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Val Tyr
 35 40 45

Asp Asp Ser Asp Arg Pro Ser Trp Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser
 50 55 60

Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Arg Gly Glu Ala Gly

65 70 75 80

Asp Gln Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Asp Ser Ser Ser Asp His
 85 90 95

Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
 100 105

<210> 15
 <211> 17
 <212> BL7OK
 <213> Homo sapiens

<220>
 <221> MISC FEATURE
 <223> FAB4 HCDR2

<400> 15

Val Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Lys His Tyr Ala Gln Ser Val Lys
 1 5 10 15

Gly

<210> 16
 <211> 122
 <212> BL7OK
 <213> Homo sapiens

<220>
 <221> MISC FEATURE
 <223> FAB4 ВАЖКОГО ЛАНЦЮГА

<220>
 <221> MISC FEATURE
 <223> FAB4 VH ВАЖКОГО ЛАНЦЮГА

<400> 16

Gln Met Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
 1 5 10 15

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

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

Ala Val Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Lys His Tyr Ala Gln Ser Val

50 55 60

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

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

Ala Arg Ala Pro Gln Trp Glu Leu Val His Glu Ala Phe Asp Ile Trp
100 105 110

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

<210> 17
<211> 17
<212> БЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<221> MISC FEATURE
<223> FAB5 HCDR2

<400> 17

Val Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Lys His Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Ala

<210> 18
<211> 122
<212> БЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<221> MISC FEATURE
<223> FAB5 ВАЖКОГО ЛАНЦЮГА

<220>
<221> MISC FEATURE
<223> FAB5 VH ВАЖКОГО ЛАНЦЮГА

<400> 18

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Arg Thr Tyr

20 25 30

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

Ala Val Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Lys His Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

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

Ala Arg Ala Pro Gln Trp Gln Leu Val His Gln Ala Phe Asp Ile Trp
100 105 110

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

<210> 19
<211> 11
<212> EUTOK
<213> Homo sapiens

<220>
<221> MISC FEATURE
<223> FAB6 LCDR1

<400> 19

Gly Gly Gln Asn Leu Gly Ser Lys Ser Val His
1 5 10

<210> 20
<211> 108
<212> EUTOK
<213> Homo sapiens

<220>
<221> MISC FEATURE
<223> FAB6 ЛЕГКОГО ЛАНЦЮГА

<220>
<221> MISC FEATURE
<223> FAB6 VL ЛЕГКОГО ЛАНЦЮГА

<400> 20

Ser Tyr Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ala Pro Gly Gln

1 5 10 15

Thr Ala Arg Ile Thr Cys Gly Gly Gln Asn Leu Gly Ser Lys Ser Val
20 25 30

His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Val Tyr
35 40 45

Asp Asp Ser Asp Arg Pro Ser Trp Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Arg Gly Glu Ala Gly
65 70 75 80

Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Asp Ser Ser Ser Asp His
85 90 95

Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
100 105

<210> 21
<211> 11
<212> ELLIOK
<213> Homo sapiens

<220>
<221> MISC FEATURE
<223> FAB7 LCDR1

<400> 21

Gly Gly Asn Gln Leu Gly Ser Lys Ser Val His
1 5 10

<210> 22
<211> 108
<212> ELLIOK
<213> Homo sapiens

<220>
<221> MISC FEATURE
<223> FAB7 ЛЕГКОГО ЛАНЦЮГА

<220>
<221> MISC FEATURE
<223> FAB7 VL ЛЕГКОГО ЛАНЦЮГА

<400> 22

Ser Tyr Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ala Pro Gly Gln

1 5 10 15

Thr Ala Arg Ile Thr Cys Gly Gly Asn Gln Leu Gly Ser Lys Ser Val
20 25 30

His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Val Tyr
35 40 45

Asp Asp Ser Asp Arg Pro Ser Trp Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Arg Gly Glu Ala Gly
65 70 75 80

Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Asp Ser Ser Ser Asp His
85 90 95

Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
100 105

<210> 23
<211> 11
<212> ELLOK
<213> Homo sapiens

<220>
<221> MISC FEATURE
<223> FAB8 LCDR3

<400> 23

Gln Val Trp Asp Thr Ser Ser Asp His Val Val
1 5 10

<210> 24
<211> 108
<212> ELLOK
<213> Homo sapiens

<220>
<221> MISC FEATURE
<223> FAB8 ЛЕГКОГО ЛАНЦЕОГА

<220>
<221> MISC FEATURE
<223> FAB8 VL ЛЕГКОГО ЛАНЦЕОГА

<400> 24

Ser Tyr Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ala Pro Gly Gln

1 5 10 15

Thr Ala Arg Ile Thr Cys Gly Gly Asn Asn Leu Gly Ser Lys Ser Val
20 25 30

His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Val Tyr
35 40 45

Asp Asp Ser Asp Arg Pro Ser Trp Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Arg Gly Glu Ala Gly
65 70 75 80

Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Asp Thr Ser Ser Asp His
85 90 95

Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
100 105

<210> 25

<211> 11

<212> БЛТОК

<213> Homo sapiens

<220>

<221> MISC FEATURE

<223> FAB9 LCDR3

<400> 25

Gln Val Trp Asp Ser Thr Ser Asp His Val Val

1 5 10

<210> 26

<211> 108

<212> БЛТОК

<213> Homo sapiens

<220>

<221> MISC FEATURE

<223> FAB9 ЛЕГКОГО ЛАНЦЮГА

<220>

<221> MISC FEATURE

<223> FAB9 VL ЛЕГКОГО ЛАНЦЮГА

<400> 26

Ser Tyr Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ala Pro Gly Gln

1 5 10 15

Thr Ala Arg Ile Thr Cys Gly Gly Asn Asn Leu Gly Ser Lys Ser Val
20 25 30

His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Val Tyr
35 40 45

Asp Asp Ser Asp Arg Pro Ser Trp Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Arg Gly Glu Ala Gly
65 70 75 80

Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Asp Ser Thr Ser Asp His
85 90 95

Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
100 105

<210> 27

<211> 159

<212> ELMOK

<213> Homo sapiens

<400> 27

Met Phe Pro Phe Ala Leu Leu Tyr Val Leu Ser Val Ser Phe Arg Lys
1 5 10 15

Ile Phe Ile Leu Gln Leu Val Gly Leu Val Leu Thr Tyr Asp Phe Thr
20 25 30

Asn Cys Asp Phe Glu Lys Ile Lys Ala Ala Tyr Leu Ser Thr Ile Ser
35 40 45

Lys Asp Leu Ile Thr Tyr Met Ser Gly Thr Lys Ser Thr Glu Phe Asn
50 55 60

Asn Thr Val Ser Cys Ser Asn Arg Pro His Cys Leu Thr Glu Ile Gln
65 70 75 80

Ser Leu Thr Phe Asn Pro Thr Ala Gly Cys Ala Ser Leu Ala Lys Glu
85 90 95

Met Phe Ala Met Lys Thr Lys Ala Ala Leu Ala Ile Trp Cys Pro Gly
100 105 110

Tyr Ser Glu Thr Gln Ile Asn Ala Thr Gln Ala Met Lys Lys Arg Arg
115 120 125

Lys Arg Lys Val Thr Thr Asn Lys Cys Leu Glu Gln Val Ser Gln Leu
130 135 140

Gln Gly Leu Trp Arg Arg Phe Asn Arg Pro Leu Leu Lys Gln Gln
145 150 155

<210> 28

<211> 227

<212> BLIHK

<213> Homo Sapiens

<400> 28

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

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

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

Ala Val Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Lys His Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

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

Ala Arg Ala Pro Gln Trp Glu Leu Val His Glu Ala Phe Asp Ile Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
115 120 125

Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr
130 135 140

Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
145 150 155 160

Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
 165 170 175

Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
 180 185 190

Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn
 195 200 205

His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser
 210 215 220

Cys Asp Lys
 225

<210> 29
 <211> 214
 <212> ELTOK
 <213> Homo Sapiens

<400> 29

Ser Tyr Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ala Pro Gly Gln
 1 5 10 15

Thr Ala Arg Ile Thr Cys Gly Gly Asn Asn Leu Gly Ser Lys Ser Val
 20 25 30

His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Val Tyr
 35 40 45

Asp Asp Ser Asp Arg Pro Ser Trp Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser
 50 55 60

Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Arg Gly Glu Ala Gly
 65 70 75 80

Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Asp Ser Ser Ser Asp His
 85 90 95

Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gln Pro Lys
 100 105 110

Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu Leu Gln
 115 120 125

Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr Pro Gly
 130 135 140

Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val Lys Ala Gly
 145 150 155 160

Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr Ala Ala
 165 170 175

Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His Arg Ser
 180 185 190

Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys Thr Val
 195 200 205

Ala Pro Thr Glu Cys Ser
 210

<210> 30
 <211> 681
 <212> JHK
 <213> Homo sapiens

<400> 30
 cagatcagct tegtgaatc tegtggcgcc gtgtgcagc ctggcagatc tctgagactg 60
 tcttggtccg cctcggcctt cacttcaga acctacgga tgcactgggt ccgacaggcc 120
 cctggcaag gattggaatg ggtgcgcgtg atttggtacg accgctccaa caagcactac 180
 ggcgactcgc tgaagggcag attcaccatc accagagaca actccaagaa cactcgaac 240
 ctgcagatga actcctgag agccgaggac accgccgtgt actattgtgc tagagccct 300
 cagtgggaac tctgtcatga ggcccttgac atctggggcc aggaacaat ggtcaccgtc 360
 tcttcagcct ccaccaaggg ccctcgggtc ttccctcgtg cactctctc caagagacc 420
 tctgggggca cagcggccct gggtgcctg gtcaaggact acttcccga accggtgacg 480
 gtgtcgtgga actcagggcg cctgaccagc gggtgcaca cctcccggc tgtctacag 540
 tcttcaggac tctactcct cagcagcgtg gtgacagtgc cctcagcag ctggggcacc 600
 cagactaca tctgcaacgt gaatcacag ccagcaaca ccaaggtaga caagagagtt 660
 gagcccaat ctgtgacaa a 681

<210> 31
 <211> 642
 <212> JHK
 <213> Homo sapiens

tcctatgttc ttacacaacc accgtcgggtc tgggttgcgc caggacaaac agctcgaatt	60
acatgcggag gaaacaacct cggatcgaag tgggttcact ggtatcaaca aaagccagga	120
caagctccag ttctcgtggt gtacgatgat tcagatcgac catcatggat ccagagcga	180
ttctcaggat caaacctcgg aaatcctgcc acgtcacaac ttacacggc agaagcggga	240
gatgaagctg attactatig ccaagtctgg gactcgtcgt cagatcatgt tgttttcgga	300
ggtggacaa agctcacagt gctcggtcag cccaagctg cccctcgggt cactctgttc	360
ccgcctcct ctgaggagct tcaagccaac aaggccacac tgggtgtctc cataagtcac	420
ttctaccogg gagccgtgac agtggcctgg aaggcagata gcagccccgt caaggcggga	480
gtggagacca ccacaccttc caaacaagc aacaacaagt acgcggccag cagctatctg	540
agcctgacgc ctgagcagtg gaagtcacac agaagctaca gctgccaggt cagcatgaa	600
ggagacacgc tggagaagac agtggccctt acagaatgtt ca	642