



**ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА  
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ**

**(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ**(21)(22) Заявка: **2008102655/15**, **23.06.2006**(24) Дата начала отсчета срока действия патента:  
**23.06.2006**

Приоритет(ы):

(30) Конвенционный приоритет:  
**24.06.2005 US 60/693,968**(43) Дата публикации заявки: **27.07.2009** Бюл. № 21(45) Опубликовано: **27.10.2013** Бюл. № 30(56) Список документов, цитированных в отчете о поиске: EP 1273305 A1, 08.01.2003. US 2003139339 A1, 24.07.2003. **Idell S et al. Local abnormalities in coagulation and fibrinolytic pathways predispose to alveolar fibrin deposition in the adult respiratory distress syndrome // J Clin Invest. - 1989 Aug; 84(2):695-705. RU 2253450 C2, 10.06.2005. WO 2004062689 A1, 29.07.2007. US 5106833 A, 21.04.1992. US 5312736 A, 17.05.2004.**(85) Дата начала рассмотрения заявки РСТ на национальной фазе: **24.01.2008**(86) Заявка РСТ:  
**IB 2006/002602 (23.06.2006)**(87) Публикация заявки РСТ:  
**WO 2006/136962 (28.12.2006)**

Адрес для переписки:

**129090, Москва, ул. Б.Спасская, 25, стр.3,  
ООО "Юридическая фирма Городиский и  
Партнеры", пат.пов. Е.Е.Назиной, рег.№ 517**

(72) Автор(ы):

**УТТЕНТАЛЬ Ларс Отто (ES)**

(73) Патентообладатель(и):

**ДРАГРЕКЬЮЭ АПС (DK)****(54) ВВЕДЕНИЕ В ДЫХАТЕЛЬНЫЕ ПУТИ ИНГИБИТОРА ТКАНЕВОГО ФАКТОРА ПРИ ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ СОСТОЯНИЯХ, ПОРАЖАЮЩИХ ДЫХАТЕЛЬНЫЕ ПУТИ**

(57) Реферат:

Изобретение относится к фармацевтической промышленности и представляет собой применение человеческого ингибитора тканевого фактора (TFPI) или его биологически активного TFPI гомолога, обладающего более чем 90% идентичностью

последовательности TFPI в качестве единственного активного ингредиента для изготовления лекарственного средства для лечения или снижения риска внесосудистого отложения фибрина в альвеолярном или бронхоальвеолярном пространствах у человека посредством введения через дыхательный путь

с помощью интратрахеального, интрабронхиального или интраальвеолярного введения. Изобретение обеспечивает

эффективное ингибирование внесосудистого отложения фибрина. 2 н. и 12 з.п. ф-лы, 2 пр.

R U 2 4 9 6 5 1 6 C 2

R U 2 4 9 6 5 1 6 C 2



FEDERAL SERVICE  
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(51) Int. Cl.  
**A61K 38/57** (2006.01)  
**A61P 11/00** (2006.01)

**(12) ABSTRACT OF INVENTION**

(21)(22) Application: **2008102655/15, 23.06.2006**

(24) Effective date for property rights:  
**23.06.2006**

Priority:

(30) Convention priority:  
**24.06.2005 US 60/693,968**

(43) Application published: **27.07.2009 Bull. 21**

(45) Date of publication: **27.10.2013 Bull. 30**

(85) Commencement of national phase: **24.01.2008**

(86) PCT application:  
**IB 2006/002602 (23.06.2006)**

(87) PCT publication:  
**WO 2006/136962 (28.12.2006)**

Mail address:

**129090, Moskva, ul. B.Spaskaja, 25, str.3, OOO  
"Juridicheskaja firma Gorodisskij i Partnery",  
pat.pov. E.E.Nazinoj, reg.№ 517**

(72) Inventor(s):  
**UTTENTAL' Lars Otto (ES)**

(73) Proprietor(s):  
**DRAGREK'JuEh APS (DK)**

**(54) RESPIRATORY INTRODUCTION OF TISSUE FACTOR PATHWAY INHIBITOR IN  
INFLAMMATORY CONDITIONS INVOLVING RESPIRATORY TRACT**

(57) Abstract:

FIELD: medicine, pharmaceuticals.

SUBSTANCE: invention refers to pharmaceutical industry and represents using a human tissue factor pathway inhibitor (TFPI) or its biologically active homolog having a sequence more than 90 per cent identical to TFPI as a single active ingredient for preparing a drug effective for treating or reducing a

risk of extravascular fibrin accumulation in the human alveolar or bronchoalveolar spaces by the intra-tracheal, intra-alveolar or intra-bronchial introduction through the respiratory passage.

EFFECT: invention provides the effective inhibition of extravascular fibrin accumulation.

14 cl, 2 ex

RU 2 496 516 C2

RU 2 496 516 C2

Все ссылки на патенты и не на патенты, процитированные в настоящей заявке, приведены здесь в качестве ссылки.

Область техники, к которой относится изобретение

Настоящее изобретение относится к способам прекращения острого, рецидивирующего и хронического отложения фибрина в просветах дыхательных путей, в частности, в альвеолярных и бронхиолярных просветах дыхательных путей, при любом заболевании, связанном с таким отложением, у детей и взрослых. Эти заболевания включают в себя воспалительные заболевания легких, такие как острое повреждение легких (ALI), которое может являться связанным с прямой или непрямой травмой легких, например, после искусственной вентиляции (вызванное искусственной вентиляцией повреждение легких (VILI)), такие воспалительные заболевания, как аутоиммунные заболевания, панкреатит, аспирационный пневмонит, вдыхание токсических паров, синдром острой дыхательной недостаточности (ARDS), который является более тяжелым проявлением ALI, инфекции, такие как сепсис, тяжелый сепсис и септический шок; пневмонию любого происхождения; острые и хронические бронхоальвеолярные заболевания, фиброзирующий альвеолит, бронхиолит, кистозный фиброз, а также заболевания с тяжелой гиперреактивностью дыхательных путей, например, бронхиальную астму и вызванную лекарственным средством легочную недостаточность, например, после химиотерапии, такой как блеомицин. В способах по настоящему изобретению антикоагулянты, такие как ингибитор тканевого фактора (или ингибитор тканевого фактора или TFPI), независимо от того, получены ли эти средства из плазмы, или получены способом рекомбинантной ДНК, вводят интратрахеально, интрабронхиально, или в альвеолярное пространство посредством введения в дыхательные пути. Эти способы являются применимыми в клинической медицине, особенно в реаниматологии или интенсивной терапии и респираторной медицине.

Уровень техники изобретения

Отложение фибрина в просветах дыхательных путей, в частности, в альвеолярных и бронхиолярных просветах, является частым осложнением системных воспалительных состояний, таких как состояния, происходящие от травмы, сепсиса, тяжелого сепсиса и септического шока, вызванных лекарственными средствами ALI, ARDS или пневмонита (например, из-за метотрексата, блеомицина или сиролимуса) (Amigues L, Klouche K, Massanet P, Gaillard N, Garrigue V, Beraud JJ, Mourad G. Sirolimus-associated acute respiratory distress syndrome in a renal transplant recipient. *Transplant Proc.* 2005; 37: 2830-1.), вызванные искусственной вентиляцией повреждения легких (VILI) (MacIntyre NR. Current issues in mechanical ventilation for respiratory failure. *Chest.* 2005; 128:561 S-567S) и вторичные по отношению к искусственной вентиляции повреждения легких (VILI) (The Acute Respiratory Distress Syndrome Network: Ventilation with lower tidal volumes as compared with traditional tidal volumes for acute lung injury and the acute respiratory distress syndrome. *N Engl J Med.* 2000; 342:1301-1308).

Эти состояния приводят к системной активации коагуляции, в конечном счете приводя к отложению фибрина во внутрисосудистом и внесосудистом пространстве, т.е. в альвеолярных и бронхиальных пространствах. В то же время, активация воспаления приводит к высвобождению провоспалительных цитокинов, таких как фактор некроза опухоли альфа (TNF- $\alpha$ ), интерлейкин 1-бета (IL-1 $\beta$ ), интерлейкин 6 (IL-6) и интерлейкин 8 (IL-8), из активированных воспалительных клеток. Внутрисосудистое отложение фибрина и высвобождение провоспалительных цитокинов в воздушных пространствах легких вызывает повреждение ткани,

характеризующееся увеличенной проницаемостью альвеолярно-капиллярной мембраны с диффузным альвеолярным повреждением и накоплением в альвеолах отечной жидкости, богатой белками плазмы, включая компоненты системы свертывания крови, и уменьшение продукции сурфактанта. В результате в альвеолярных протоках и воздушных пространствах формируется богатая фибрином гиалиновая мембрана. В поздней фазе происходит массовая инфильтрация нейтрофилов и других воспалительных клеток с последующим формированием экссудатов и фиброзом. Описание и обзор патологической последовательности приведены в Bellingan GJ, 2002: "The pathogenesis of ALI/ARDS", Thorax 57:540-546. Клинические состояния, соответствующие этой патологии, названы ALI или ARDS, и отличаются только тем, что ARDS является более тяжелым и характеризуется большей гипоксемией, так что отношение артериального  $PO_2$  к фракции вдыхаемого кислорода ( $PaO_2/FiO_2$ )  $\leq 200$  мм рт. ст. ALI и ARDS происходят как часть синдрома системного воспалительного ответа (SIRS), который может быть обусловлен инфекционными или не инфекционными причинами, такими как панкреатит или прямая или непрямая травма легких; когда причина SIRS является инфекционной, его называют сепсисом, который, когда он связан с дисфункцией органа, определяют как тяжелый сепсис, и когда он связан со значительной гипотензией, как септический шок.

Сходная последовательность патологических событий происходит при пневмониях, обусловленных множеством причин, включая вирусные, бактериальные и грибковые агенты, например, при пневмоцистной пневмонии (PCP), бронхолите (например, вторичном по отношению к вирусному пневмониту и/или реакции легких трансплантат-против-хозяина (GVHD)), приводящей также к альвеолярным экссудатам и отложению фибрина в областях легких, пораженных воспалительным процессом.

Отмечено (например, Levi M et al., 2003: "Bronchoalveolar coagulation and fibrinolysis in endotoxemia and pneumonia", Crit Care Med 31:S238-S242), что легкое является особенно чувствительным к отложению фибрина при сепсисе, для него этот феномен показан в большей степени, чем для других органов. Обширное отложение фибрина позволяет предполагать возможное вовлечение местной активации коагуляции или отклонений в местных физиологических регуляторных системах. В бронхоальвеолярном пространстве тканевой фактор (TF), локально экспрессирующийся в альвеолярных макрофагах и в эпителии, по-видимому, играет решающую роль в инициации коагуляции, в то время как физиологическая система антикоагуляции является дисфункциональной из-за антитромбина и системы белка С. Описано, что система белка С является заметно нарушенной у пациентов с ALI/ARDS как из-за сепсиса, так и не из-за сепсиса, и существует доказательство как циркуляторного, так и внутриальвеолярного дисбаланса в пути белка С при ALI/ARDS (Ware LB et al., 2003: "Protein C and thrombomodulin in human acute lung injury", Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol 285:L514-L521).

В то же время существует значительное подавление местного фибринолиза, т.е. существует повышающая регуляция коагуляции в поврежденном легком, в то время как фибринолитическая активность заметно подавлена.

Сущность изобретения

Целью настоящего изобретения является улучшение лечения ALI, ARDS, пневмонии и воспалительных заболеваний легких, направленного на местную активацию системы коагуляции в легких и местную недостаточность антикоагуляционных механизмов, посредством применения подходящих антикоагулянтов или средств, способных

блокировать местную инициацию коагуляции, посредством местного введения в дыхательные пути. Таким образом, в пораженных дыхательных путях можно достигать высокой местной концентрации этих средств, так что это внесосудистое отложение фибрина можно ингибировать более эффективно, чем посредством системного (внутривенного) введения тех же самых средств, однако, избегая системных неблагоприятных эффектов или уменьшая их. Введение этих средств в дыхательные пути можно осуществлять отдельно или в качестве дополнения к внутривенному введению тех же самых или других средств. Из-за «перекрестной связи» между коагуляцией и воспалением ожидают также, что введение в дыхательные пути этих средств будет модулировать местное воспаление в легких посредством уменьшения местной активации тромбина и, в конкретных случаях, также посредством прямого противовоспалительного действия.

Аспект настоящего изобретения относится к способу уменьшения внесосудистого отложения фибрина в дыхательных путях, особенно в альвеолярных или бронхоальвеолярных пространствах, у людей с воспалительными и/или инфекционными состояниями легких, которые приводят к таким отложениям фибрина, где способ включает в себя введение через дыхательный путь антикоагулянтов, либо очищенных из плазмы, либо полученных посредством способа рекомбинантной ДНК.

Подробное описание изобретения

Настоящее изобретение относится к введению в дыхательные пути, посредством любого подходящего способа, включая, в качестве неограничивающих примеров, интратрахеальное, интрабронхиальное или интраальвеолярное введение человеку, включая как взрослых, так и детей, очищенного или концентрированного человеческого ингибитора тканевого фактора (TFPI) или его производных, полученных при этом для предупреждения или уменьшения внесосудистого отложения фибрина в дыхательных путях, особенно в альвеолярных или бронхоальвеолярных воздушных пространствах. Такое отложение фибрина может происходить от острого состояния, рецидивирующего состояния или хронического состояния и может быть обусловлено множеством причин, включая в качестве неограничивающих примеров, травму, прямую или непрямую, воспаление или инфекцию, обусловленное лекарственным средством отложение фибрина в дыхательных путях и интерстициальной ткани легких, врожденные заболевания, такие как кистозный фиброз, или может быть обусловлено сочетанием таких причин. Например, считается, что способы по настоящему изобретению будут являться применимыми для лечения альвеолярного отложения фибрина, характерного для ALI или ARDS, возникающего у большей части пациентов с сепсисом различной степени тяжести, у пациентов с тяжелыми пневмониями, облитерирующим бронхиолитом и при фиброзирующем альвеолите.

Определения

Аффинность: сила связывания между рецепторами и их лигандами, например, между антителом и его антигеном.

Аминокислотный остаток: часть аминокислоты, присутствующая в полипептидной цепи, в которой аминокислота является связанной с другими аминокислотами посредством пептидных (амидных) связей. Аминокислотные остатки, описанные здесь, присутствуют предпочтительно в «L»-изомерной форме. Однако, аминокислота относится к любой аминокислоте, такой как L-аминокислота, D-аминокислота, альфа-аминокислота, бета-аминокислота, гамма-аминокислота, природная аминокислота и

синтетическая аминокислота или т.п., при условии, что полипептид сохраняет желательное функциональное свойство. Дополнительно включены природные или синтетические аминокислоты, подвергнутые модификации. NH<sub>2</sub> относится к свободной аминокислотной группе, присутствующей на N-конце полипептида. COOH относится к свободной карбоксильной группе, присутствующей на C-конце полипептида. Здесь используют общепринятые для полипептидов сокращенные наименования аминокислотных остатков.

Следует отметить, что все последовательности аминокислотных остатков, представленные здесь в виде формул, обладают ориентацией слева направо в общепринятом направлении от N-конца к C-концу. Более того, следует отметить, что чертой в начале или конце последовательности аминокислотных остатков показана пептидная связь с дальнейшей последовательностью из одного или нескольких аминокислотных остатков или ковалентная связь с N-концевой группой, такой как NH<sub>2</sub> или ацетил, или с C-концевой группой, такой как COOH.

Модифицированная аминокислота: аминокислота, какая-либо группа которой является химически модифицированной. В частности, предпочтительной является аминокислота, химически модифицированная по альфа-углеродному атому в альфа-аминокислоте.

Полипептид: Выражение полипептид относится к молекуле, содержащей аминокислотные остатки, не содержащей связей, отличных от амидных связей, между соседними аминокислотными остатками. Выражение пептид используют соответственно.

Молекула TFPI

Настоящее изобретение относится к применению молекул(ы) TFPI для изготовления лекарственного средства для местного лечения острого и внесосудистого отложения фибрина в легких. Термин «молекула TFPI» применяют здесь для обозначения любой молекулы, способной связывать и ингибировать, напрямую или опосредованно, факторы коагуляции VIIa, Xa и/или тканевого фактора (TF). В норме TFPI присутствует в плазме как в форме полноразмерной молекулы, так и в виде усеченных по C-концу форм. TFPI также циркулирует в комплексе с липопротеинами плазмы.

Способы анализа функциональной активности молекул TFPI для применения по настоящему изобретению включают в себя способы, описанные Vajaj et al., J Clin Invest 79, p. 1874-1878, 1987; Sandset et al., Thromb Res 47, p. 389-400, 1987.

Следует понимать, что активность молекул TFPI для применения по настоящему изобретению может являться менее высокой или более высокой, чем у природного TFPI.

TFPI является эндогенным ингибитором сериновых протеаз, синтезируемым и секретируемым эндотелиальными клетками, который известен также как липопротеин-ассоциированный ингибитор коагуляции (LACI), ингибитор тканевого фактора (TFI), и ингибитор внешнего пути свертывания крови (EPI). TFPI обладает антикоагулянтными свойствами. TFPI человека представляет собой полипептид из 276 аминокислот, содержащий 18 остатков цистеина и при правильном сворачивании формирующий 9 дисульфидных мостиков. Первичная последовательность содержит три N-связанных консенсусных участка гликозилирования (Asn-X-Ser/Thr). Остатки аспарагина в участках гликозилирования локализованы в положениях 145, 195 и 256. Полипептид TFPI содержит три домена ингибитора фермента типа Кунитца.

Кроме того, настоящее изобретение относится к применению полученных рекомбинантным или синтетическим, или трансгенным способом пептидов TFPI

человека. Таким образом, в одном варианте осуществления молекула TFPI является гомологом TFPI.

Ингибитор тканевого фактора человека, предназначенный для введения в соответствии с настоящим изобретением, включает в себя существующий в природе ингибитор тканевого фактора человека или его биологически активный аналог, либо полученный из плазмы, либо полученный рекомбинантным, трансгенным или синтетическим способом. Рекомбинантный ингибитор тканевого фактора может содержать модификации (например, замены и/или делеции аминокислот, и/или добавления гетерологичных аминокислотных последовательностей), что может приводить к аналогам с усиленной биологической активностью. Например, TFPI можно получить с использованием систем эукариотических клеток (например, клеток почки человека 293, клеток HEPG-2, LLC-MK2, CHO или AV12), трансгенных животных, трансгенных растений или систем *in vitro*. В этих системах белок можно получить в форме неактивного предшественника, который после очистки протеолитически расщепляют и составляют для введения, или в зрелой форме.

Подробности получения, очистки, активации и составления TFPI известны в данной области и описаны, например, в патенте США № 5212091, полное содержание которого приведено здесь в качестве ссылки. Гены и плазмиды для TFPI, которые можно использовать в этих способах, описаны также в патенте США № 4966852, который также приведен здесь в качестве ссылки. Ингибитор тканевого фактора можно также получить из коммерческих источников. Например, конкретный пример TFPI, который можно использовать по изобретению, производят в Chiron Corporation, под наименованием Tifacogin™ (рекомбинантный ингибитор тканевого фактора).

В одном из предпочтительных вариантов осуществления настоящего изобретения молекула TFPI представляет собой аналог TFPI. «Аналог TFPI» определяют как молекулу, которая обладает одним или несколькими (а именно, 20 или менее, например, 17 или менее, а именно, 15 или менее, например, 13 или менее, а именно, 11 или менее, например, 9 или менее, а именно, 7 или менее, например, 5 или менее, а именно, 3 или менее, например, 2 или менее, а именно, 1 или менее) заменами, делециями, инверсиями или добавлениями аминокислот относительно TFPI и может содержать формы D-аминокислот.

Аналоги TFPI описаны также в патенте США № 5106833, где описаны аналоги и фрагменты, патентах США №№ 5312736 и 5378614, и WO 2004/062689, полное содержание которых приведено здесь в качестве ссылки.

Предпочтительные молекулы TFPI, применяемые по настоящему изобретению, включают в себя также аналоги TFPI, в которых добавлены или делетированы одна или несколько аминокислот, не присутствующих в исходной последовательности, и их производные.

В одном варианте осуществления настоящего изобретения аналог TFPI обладает повышенной антикоагулянтной активностью по сравнению с белком дикого типа. В предпочтительном варианте осуществления аналог обладает более высокой активностью связывания с его партнерами по связыванию, например, такими как фактор VIIa, Ха и TF, чем белок дикого типа. В дополнительном варианте осуществления модификации приводят к стабилизации аналога TFPI. Аналоги TFPI можно применять в соответствии с настоящим изобретением по отдельности или в сочетании с другими аналогами и/или гомологами, и/или производными, и/или конъюгатами TFPI. Например, аналог TFPI с более высокой активностью связывания

для фактора VIIa, Ха и/или TF можно использовать в сочетании со стабилизированным гомологом TFPI.

В другом предпочтительном варианте осуществления настоящего изобретения молекула TFPI представляет собой производное TFPI. «Производное TFPI»  
5 определяют как молекулу, обладающую аминокислотной последовательностью TFPI или аналога TFPI, но кроме того содержащую химическую модификацию одной или нескольких боковых групп аминокислот, альфа-углеродных атомов, концевой  
10 аминокислоты, или концевой группы карбоновой кислоты. Химическая модификация включает в себя в качестве неограничивающих примеров добавление химических групп, создание новых связей и удаление химических групп. Модификации боковых групп аминокислот включают в себя в качестве неограничивающих примеров  
15 ацилирование эpsilon-аминогрупп лизина, N-алкилирование аргинина, гистидина или лизина, алкилирование групп глутаминовой или аспарагиновой карбоновой кислоты и дезамидирование глутамина или аспарагина. Модификации концевой аминокислоты включают в себя в качестве неограничивающих примеров модификации  
20 дезаминирования, модификации N-низшим алкилом, N-ди-низшим алкилом и модификации N-ацилирования. Модификации концевой карбоксильной группы включают в себя в качестве неограничивающих примеров модификации амидом,  
25 низшим алкиламидом, диалкиламидом, и сложным эфиром низшего алкила. Низший алкил представляет собой C1-C4 алкил. Более того, одну или несколько боковых групп или концевых групп можно защищать защитными группами, известными  
обычному специалисту в области белковой химии. Альфа-углеродные атомы аминокислоты могут являться моно- или диметилированными.

#### Гомологи молекул TFPI

Гомолог одной или нескольких из указанных здесь последовательностей может отличаться одной или несколькими аминокислотами по сравнению с определенными  
30 последовательностями, однако, является способным выполнять ту же самую функцию, т.е. гомолог можно рассматривать как функциональный эквивалент predeterminedной последовательности.

Таким образом, в одном из предпочтительных вариантов осуществления настоящего изобретения, молекула TFPI является гомологом любой из описанных  
35 здесь молекул, таким как гомолог любой из молекул, выбранных из группы, состоящей из:

- TFPI
- тифакогина

40 Таким образом, в одном из предпочтительных вариантов осуществления настоящего изобретения молекула TFPI представляет собой пептид, содержащий одну или несколько замен, инверсий, добавлений и/или делеций аминокислот по сравнению с любой из описанных здесь молекул, таких как молекула, выбранная из группы,  
состоящей из:

- 45 - TFPI
- тифакогина

В одном варианте осуществления число замен, делеций или добавлений составляет 20 аминокислот или менее, а именно, 15 аминокислот или менее, например,  
50 10 аминокислот или менее, а именно, 9 аминокислот или менее, например, 8 аминокислот или менее, а именно, 7 аминокислот или менее, например, 6 аминокислот или менее, а именно, 5 аминокислоты или менее, например, 4 аминокислоты или менее, а именно, 3 аминокислоты или менее, например, 2 аминокислоты или менее (а именно,

1), или любое целое число между этими количествами. В одном аспекте изобретения замены включают в себя одну или несколько консервативных замен, а именно, 20 или менее консервативных замен, например, 18 или менее, а именно, 16 или менее, например, 14 или менее, а именно, 12 или менее, например, 10 или менее, а именно, 8  
 5 или менее, например, 6 или менее, а именно, 4 или менее, например, 3 или менее, а именно, 2 или менее консервативные замены. «Консервативная» замена обозначает замену аминокислотного остатка на другой, родственный аминокислотный остаток, принадлежащий к той же самой группе аминокислот, таких как аминокислоты с  
 10 гидрофобной боковой цепью, аминокислоты с ароматической боковой цепью, аминокислоты с гидрофобной боковой цепью, аминокислоты с основной боковой цепью, аминокислоты с кислой боковой цепью, аминокислоты с гидроксильной боковой цепью и аминокислоты с неионизированной полярной боковой цепью. Примеры консервативных замен включают в себя замену одного гидрофобного  
 15 остатка, такого как изолейцин, валин, лейцин или метионин, на другой, или замену одного основного остатка на другой, такую как замену аргинина на лизин, или замену одного кислого остатка на другой, такую как замена глутаминовой кислоты на аспарагиновую кислоту, или замену одного неионизированного полярного остатка на  
 20 другой, такую как замена глутамина на аспарагин, и т.п. В следующей таблице перечислены иллюстративные, но не ограничивающие консервативные замены аминокислот.

Исходный остаток	Примерные замены
Ala	Ser, Thr, Val, Gly
Arg	Lys
Asn	His, Ser
Asp	Glu, Asn
Cys	Ser
Gln	Asn, His
Glu	Asp, Glu
Gly	Ala, Ser
His	Asn, Gln
Ile	Leu, Val, Thr
Leu	Ile, Val
Lys	Arg, Gln, Glu, Thr
Met	Leu, Ile, Val
Phe	Leu, Tyr
Ser	Thr, Ala, Asn
Thr	Ser, Ala
Trp	Arg, Ser
Tyr	Phe
Val	Ile, Leu, Ala
Pro	Ala

Другими гомологами TFPI, используемыми для применений и способов по  
 45 настоящему изобретению, являются пептидные последовательности, обладающие более чем 50% идентичностью последовательности, и предпочтительно, более чем 90% идентичностью последовательности (а именно, более чем 91% идентичностью последовательности, например, более чем 92% идентичностью последовательности, а  
 50 именно, более чем 93% идентичностью последовательности, например, более чем 94% идентичностью последовательности, а именно, более чем 95% идентичностью последовательности, например, более чем 96% идентичностью последовательности, а именно, более чем 97% идентичностью последовательности, например, более чем 98%

идентичностью последовательности, а именно, более чем 99% идентичностью последовательности, например, более чем 99,5% идентичностью последовательности), с любой из описанных здесь молекул, таких как молекула, выбранная из группы, состоящей из:

- TFPI
- тифакогина

Как применяют здесь, идентичность последовательности относится к сравнению между двумя молекулами с использованием общепринятых алгоритмов, хорошо известных в данной области. Предпочтительным алгоритмом для вычисления идентичности последовательности для настоящего изобретения является алгоритм Смита-Уотермана, где используют контрольную последовательность для определения процента идентичности полипептидных гомологов на протяжении ее длины. Выбор значений параметров для совпадений, несовпадений и вставок или делеций является произвольным, хотя обнаружено, что некоторые значения параметров приводят к более реалистичным с биологической точки зрения результатам, чем другие. Один из предпочтительных наборов значений параметров для алгоритма Смита-Уотермана описан в способе «участков максимального сходства», где используют значения 1 для совпадающего остатка и  $-1/3$  для несовпадающего остатка (где остаток представляет собой либо отдельный нуклеотид, либо отдельную аминокислоту) (Waterman, Bull. Math. Biol. 46, 473-500 (1984)). Вес вставок и делеций (инделов),  $x$ , определяли как

$$x_k = 1 + k/3,$$

где  $k$  представляет собой число остатков в данной вставке или делеции (Id.).

Например, последовательность, идентичная последовательности из 42 аминокислотных остатков за исключением 18 замен аминокислот и вставки 3 аминокислот, будет обладать процентной идентичностью, заданной:

$$[(1 \times 42 \text{ совпадения}) - (1/3 \times 18 \text{ несовпадений}) - (1 + 3/3 \text{ инделов})] / 42 = 81\% \text{ идентичности}$$

В одном из предпочтительных вариантов осуществления настоящего изобретения усечения на конце молекулы не принимают во внимание при вычислении идентичности последовательности (т.е., если одна молекула длиннее другой, только перекрывающуюся длину молекул используют для анализа идентичности последовательности); в другом предпочтительном варианте осуществления настоящего изобретения усечения учитывают как делеции.

Гомолог TFPI может содержать формы D-аминокислот и может представлять собой молекулу, обладающую одной или несколькими заменами, делециями, инверсиями или добавлениями аминокислот относительно любых описанных здесь молекул, таких как молекула, выбранная из группы, состоящей из:

- TFPI
- тифакогина

В одном из предпочтительных вариантов осуществления настоящего изобретения молекула TFPI представляет собой пептид, содержащий одну или несколько замен, инверсий, добавлений или делеций аминокислот по сравнению с TFPI. В одном варианте осуществления число замен, делеций или добавлений составляет 20 аминокислот или менее, а именно, 15 аминокислот или менее, например, 10 аминокислот или менее, а именно, 9 аминокислоты или менее, например, 8 аминокислот или менее, а именно, 7 аминокислот или менее, например, 6 аминокислот или менее, а именно, 5 аминокислот или менее, например, 4 аминокислоты или менее, а именно, 3 аминокислоты или менее, например, 2 аминокислоты или менее (а именно, 1), или любое целое число между этими количествами. В одном аспекте изобретения

замены включают в себя одну или несколько консервативных замен. Примеры подходящих консервативных замен приведены выше.

Другие гомологи TFPI, пригодные для применений и способов по настоящему изобретению, представляют собой пептидные последовательности, полученные из последовательностей TFPI, обладающих более чем 50% идентичностью последовательности, и предпочтительно, более чем 90% идентичностью последовательности (а именно, более чем 91% идентичностью последовательности, например, более чем 92% идентичностью последовательности, а именно, более чем 93% идентичностью последовательности, например, более чем 94% идентичностью последовательности, а именно, более чем 95% идентичностью последовательности, например, более чем 96% идентичностью последовательности, а именно, более чем 97% идентичностью последовательности, например, более чем 98% идентичностью последовательности, а именно, более чем 99% идентичностью последовательности, например, более чем 99,5% идентичностью последовательности), с (1) SEQ ID NO:1 и/или (2) с ее усеченными последовательностями. Как применяют здесь, идентичность последовательности относится к сравнению между двумя молекулами с использованием общепринятых алгоритмов, хорошо известных в данной области. Предпочтительным алгоритмом для вычисления идентичности последовательности для настоящего изобретения является алгоритм Смита-Уотермана, как описано выше.

Гомолог TFPI может также представлять собой молекулу, обладающую одной или несколькими заменами, делециями, инверсиями или добавлениями аминокислот относительно TFPI человека, и может содержать формы D-аминокислот.

В другом варианте осуществления настоящего изобретения указанный гомолог любой из predetermined здесь последовательностей, такой как SEQ ID NO: 1, можно определить как:

- i) гомологи, содержащие аминокислотную последовательность, способную избирательно связывать факторы коагуляции VIIa, Xa и/или TF, и/или
- ii) гомологи, обладающие в основном такой же или более высокой аффинностью связывания с факторами коагуляции VIIa, Xa и/или TF, чем TFPI человека, и/или
- iii) гомологи, обладающие в основном таким же, более высоким, или более низким временем полужизни после накопления в дыхательных путях.

Химически дериватизированные молекулы TFPI

Кроме того, понятно, что молекулы TFPI, пригодные для применения по настоящему изобретению, можно химически дериватизировать или изменять, например, пептиды с неприродными аминокислотными остатками (например, остаток таурина, остатки бета- и гамма-аминокислот и остатки D-аминокислот), модификации C-концевой функциональной группы, такие как модификации амидами, сложными эфирами и C-концевым кетоном, и модификации N-концевой функциональной группы, такие как модификации ацилированными аминами, основаниями Шиффа, или циклизацией, такие как обнаруженные, например, в аминокислоте пироглутаминовой кислоте.

Конъюгаты молекул TFPI

Молекулы TFPI по настоящему изобретению можно также модифицировать не относящимися к полипептидам группами, такими как PEG или группы сахара, для получения соединений TFPI, обладающих увеличенной устойчивостью к инактивации, например, посредством протеолитического расщепления.

Таким образом, в одном варианте осуществления настоящего изобретения используемая молекула TFPI представляет собой N-гликозилированный

полипептид TFPI или его аналог.

В другом варианте осуществления настоящего изобретения молекула TFPI представляет собой O-гликозилированный полипептид TFPI или его аналог.

5 В другом варианте осуществления настоящего изобретения используемая молекула TFPI представляет собой полипептид TFPI или его аналог, дополнительно содержащий N-связанную или O-связанную жирную кислоту.

Фрагменты TFPI

10 В одном варианте осуществления молекула TFPI может представлять собой фрагмент TFPI. Фрагмент представляет собой часть TFPI, гомолога TFPI или производного TFPI. Примеры фрагментов включают в себя домены Кунитца 1, 2 или 3, домены Кунитца 1 и 2 или 2 и 3, или делеции N-конца или C-конца, или обоих. Фрагменты TFPI содержат по меньшей мере 20 последовательных аминокислот из SEQ ID NO: 1. Например, фрагмент может составлять в длину 20 аминокислот или более, а  
15 именно, 25 аминокислот или более, например, 30 аминокислот или более, а именно, 50 аминокислот или более, например, 100 аминокислот или более, а именно, 150 аминокислот или более, например, 200 аминокислот или более, а именно, 250 аминокислот или более, например, 275 аминокислот или любое целое число между  
20 этими количествами.

Интратрахеальное, интрабронхиальное или интраальвеолярное введение

Способы введения включают в себя в качестве неограничивающих примеров, распыление, лаваж, ингаляцию, промывание или введение по каплям с использованием  
25 в качестве жидкости физиологически приемлемой композиции, в которой растворены фактор или факторы коагуляции. При применении здесь термины «интратрахеальное, интрабронхиальное или интраальвеолярное введение» включают в себя все формы такого введения, при помощи которого фактор свертывания вводят в трахею, бронхи или альвеолы, соответственно, либо введением по каплям раствора фактора, либо  
30 введением фактора в форме порошка, или позволяя фактору достигать соответствующей части дыхательного пути посредством ингаляции фактора в форме переведенного в аэрозольное состояние или распыляемого раствора, или порошка, или геля, с добавлением или без добавления стабилизаторов или других наполнителей.

35 В другом варианте осуществления интратрахеальное, интрабронхиальное или интраальвеолярное введение включает в себя не ингаляцию продукта, а введение по каплям или аппликацию раствора фактора или порошка, или геля, содержащего фактор, в трахею или нижние дыхательные пути.

Способы интрабронхиального/альвеолярного введения включают в себя в качестве  
40 неограничивающих примеров, введение посредством бронхоальвеолярного лаважа (BAL) согласно способам, хорошо известных специалистам в данной области, с использованием в качестве жидкости для лаважа физиологически пригодной композиции, в которой растворен TFPI и/или гомолог и/или производное, и/или конъюгат TFPI, или посредством фактически любой другой эффективной формы  
45 интрабронхиального введения, включая применение распыляемых порошков, содержащих антикоагулянт в сухой форме, с наполнителями или без, или прямое введение антикоагулянта в форме раствора, или порошка, или геля во время бронхоскопии. Способы интратрахеального введения включают в себя в качестве  
50 неограничивающих примеров, слепое промывание трахеи таким же раствором растворенного ингибитора тканевого фактора, или ингаляцию каплями распыляемой жидкости в форме аэрозоли, содержащей растворенный ингибитор тканевого фактора, полученной при применении любого распыляющего аппарата, подходящего

для данной цели.

Настоящее изобретение относится к полезному новому дополнению к способам лечения ALI, ARDS, пневмонии и других состояний, связанных с бронхоальвеолярным отложением фибрина. Более того, ожидают, что введение антикоагулянтов через  
5 дыхательный путь позволит избегать нежелательных геморрагических неблагоприятных эффектов системного введения антикоагулянтов, таких как TFPI, внутривенное применение которых связано со значительной частотой возникновения внутреннего кровоизлияния, включая внутримозговое кровоизлияние. В то же время  
10 ожидают, что введение антикоагулянтов через дыхательный путь усиливает их эффект на внесосудистое отложение фибрина в легких по сравнению с их системным введением. Ожидают, что общую дозу антикоагулянта и противовоспалительного средства, такого как TFPI, можно вводить только местно в воздушное пространство,  
15 или можно разделить между общепринятым внутривенным способом введения и способом введения в дыхательный путь по настоящему изобретению для достижения оптимального баланса между системным и местным действием лечения на легкие, и уменьшения частоты возникновения неблагоприятного эффекта лекарственного средства, например, у пациентов с тяжелым сепсисом, септическим шоком и ARDS.  
20 Более того, интервал времени («окно возможности»), в течение которого внутривенное применение TFPI, по-видимому, является благоприятным, ограничен. Более длительного интервала времени для ответа на лекарственное средство можно ожидать при использовании средства в постсептической фазе или даже в фазе позднего ARDS с преобладанием альвеолярного отложения фибрина, например, как  
25 наблюдают при ALI и ARDS.

Предпочтительный вариант осуществления настоящего изобретения относится к местному интрабронхиальному введению TFPI пациентам-людям с ARDS способами бронхоальвеолярного лаважа с помощью жидкости для лаважа (например, от 25 мл  
30 до 100 мл изотонического физиологического раствора), в которой растворена подходящая доза TFPI (например, от 2 мг до 5 мг или более). Это введение повторяют с интервалами в течение одних или нескольких суток в зависимости от продолжительности либо ранней, либо поздней фаз ALI или ARDS. В качестве дополнительной или комбинированной терапии пациентам, с показаниями для  
35 внутривенного введения TFPI, TFPI можно вводить также посредством внутривенного вливания.

Другие предпочтительные способы введения могут включать в себя применение следующих устройств:

- 40 1. Распылители под давлением с использованием сжатой смеси воздух/кислород
2. Ультразвуковые распылители
3. Электронные распылители с микронасосом (например, Aeroneb Professional Nebulizer)
4. Ингалятор с измеряемой дозой (MDI)
- 45 5. Системы для ингаляции сухого порошка (DPI)

Аэрозоль можно вводить посредством а) лицевых масок или б) через эндотрахеальные трубки интубированным пациентам во время искусственной вентиляции (устройство 1, 2 и 3). Устройства 4 и 5 пациент также может использовать  
50 без посторонней помощи, при условии, что пациент способен самостоятельно приводить в действие устройство для получения аэрозоля.

Предпочтительные концентрации раствора, содержащего TFPI и/или гомологи, и/или производные TFPI, лежат в диапазоне от 0,1 мкг до 10000 мкг активного

ингредиента на мл раствора. При использовании мономерных форм соединений концентрации часто лежат в диапазоне от 0,1 мкг до 5000 мкг на мл раствора, например, в диапазоне от приблизительно 0,1 мкг до 3000 мкг на мл раствора, и особенно в диапазоне от приблизительно 0,1 мкг до 1000 мкг на мл раствора, например, в диапазоне от приблизительно 0,1 мкг до 250 мкг на мл раствора. Предпочтительная концентрация будет составлять от приблизительно 0,1 до приблизительно 5,0 мг, предпочтительно от приблизительно 0,3 мг до приблизительно 3,0 мг, например, от приблизительно 0,5 до приблизительно 1,5 мг и особенно в диапазоне от 0,8 до 1,0 мг на мл раствора. При использовании многомерных форм соединений подходящие концентрации часто лежат в диапазоне от 0,1 мкг до 1000 мкг на мл раствора, например, в диапазоне от приблизительно 0,1 мкг до 750 мкг на мл раствора, и особенно в диапазоне от приблизительно 0,1 мкг до 500 мкг на мл раствора, например, в диапазоне от приблизительно 0,1 мкг до 250 мкг на мл раствора. Предпочтительная концентрация будет составлять от приблизительно 0,1 до приблизительно 5,0 мг, предпочтительно от приблизительно 0,3 мг до приблизительно 3,0 мг, например, от приблизительно 0,5 до приблизительно 1,5 мг и особенно в диапазоне от 0,8 до 1,0 мг на мл раствора.

#### Показания

В одном аспекте настоящее изобретение относится к способу лечения или предупреждения внесосудистого отложения фибрина в дыхательных путях. Таким образом, настоящее изобретение относится к лечению индивидуумов, страдающих или подверженных риску страдать внесосудистым отложением фибрина, вызванным воспалительным заболеванием легких.

В предпочтительном аспекте воспалительное заболевание легких выбрано из группы, состоящей из:

- ALI
- ARDS
- пневмонии
- острого бронхоальвеолярного заболевания
- хронического бронхоальвеолярного заболевания
- фиброзирующего альвеолита или
- бронхиальной астмы
- альвеолита
- бронхоолита
- облитерирующего бронхоолита с организующейся пневмонией (BOPA)
- реакции трансплантат против хозяина (GVHD)
- пневмоцистной пневмонии (PCP)
- пневмонита, например, аспирационного пневмонита
- вызванного лекарственным средством пневмонита (например, из-за метотрексата, блеомицина или сиролимуса)
- фиброзирующего альвеолита, острого или хронического
- кистозного фиброза
- идиопатического фиброза легких

В другом варианте осуществления воспалительное заболевание легких связано с состоянием, выбранным из группы, состоящей из:

- прямой или не прямой травмы легких
- панкреатита
- аспирационного пневмонита

- сепсиса
- тяжелого сепсиса и/или
- септического шока
- пневмоцистной пневмонии (PCP) - в качестве вспомогательного,

5 профилактического или предупреждающего лечения или в качестве лечения проявления PCP ARDS, индуцированного PCP, т.е. до или во время ранней фазы PCP, или при явном ARDS, сопутствующего лечению антибиотиками против пневмоцисты, например, с помощью сульфаметоксазола с триметопримом.

#### 10 Фармацевтические композиции

Фармацевтические композиции или составы для использования по настоящему изобретению включают в себя активное вещество TFPI в сочетании с фармацевтически приемлемым носителем, предпочтительно водным носителем или растворителем, предпочтительно, растворенное в них. Фармацевтическая композиция может являться  
15 твердой, жидкой, гелем или аэрозолем. Можно использовать множество водных носителей, таких как 0,9% физиологический раствор, забуференный физиологический раствор, физиологически совместимые буферы и т.п. Композиции можно стерилизовать общепринятыми способами, хорошо известными специалистам в  
20 данной области. Полученные водные растворы можно упаковывать для использования или фильтровать в асептических условиях и лиофилизировать, где лиофилизированный препарат растворяют в стерильном водном растворе перед введением.

Композиции могут содержать фармацевтически приемлемые вспомогательные  
25 вещества или адьюванты, включая в качестве неограничивающих примеров, регулирующие pH и забуферивающие вещества, и/или регулирующие тоничность вещества, например, такие как ацетат натрия, лактат натрия, хлорид натрия, хлорид калия, хлорид кальция и т.д. Составы могут содержать фармацевтически приемлемые  
30 носители и наполнители, включая микросферы, липосомы, микрокапсулы, наночастицы или т.п. Общепринятые липосомы, как правило, состоят из фосфолипидов (нейтральных или отрицательно заряженных) и/или холестерина. Липосомы представляют собой везикулярные структуры на основе липидных двойных  
35 слоев, окружающих водные пространства. Они могут отличаться по физико-химическим свойствам, таким как размер, липидный состав композиция, поверхностный заряд, число и текучесть фосфолипидных двойных слоев. Наиболее часто используемыми для формирования липосомы липидами являются: 1,2-дипальмитоил-sn-глицеро-3-фосфохолин (DLPC), 1,2-димиристоил-sn-глицеро-3-  
40 фосфохолин (DMPC), 1,2-дипальмитоил-sn-глицеро-3-фосфохолин (DPPC), 1,2-дистеароил-sn-глицеро-3-фосфохолин (DSPC), 1,2-диолеоил-sn-глицеро-3-фосфохолин (DOPC), 1,2-димиристоил-sn-глицеро-3-фосфоэтаноламин (DMPE), 1,2-дипальмитоил-sn-глицеро-3-фосфоэтаноламин (DPPE), 1,2-диолеоил-sn-глицеро-3-фосфоэтаноламин (DOPE), 1,2-димиристоил-sn-глицеро-3-фосфат (соль моонатрия)  
45 (DMPA), 1,2-дипальмитоил-sn-глицеро-3-фосфат (соль моонатрия) (DPPA), 1,2-диолеоил-sn-глицеро-3-фосфат (соль моонатрия) (DOPA), 1,2-димиристоил-sn-глицеро-3-[фосфо-гас-(1-глицерин)] (соль натрия) (DMPG), 1,2-дипальмитоил-sn-глицеро-3-[фосфо-гас-(1-глицерин)] (соль натрия) (DPPG), 1,2-диолеоил-sn-глицеро-3-  
50 [фосфо-гас-(1-глицерин)] (соль натрия) (DOPG), 1,2-димиристоил-sn-глицеро-3-[фосфо-L-серин] (соль натрия) (DMPS), 1,2-дипальмитоил-sn-глицеро-3-[фосфо-L-серин] (соль натрия) (DPPS), 1,2-диолеоил-sn-глицеро-3-[фосфо-L-серин] (соль натрия) (DOPS), 1,2-диолеоил-sn-глицеро-3-фосфоэтаноламин-N-(глутарил) (соль натрия)

и 1,1',2,2'-тетрамиристоил кардиолипин (соль аммония). Составы, состоящие из DPPC в сочетании с другими липидами или модификаторами липосом, являются предпочтительными, например, в сочетании с холестерином и/или фосфатидилхолином.

5 Длительно циркулирующие липосомы характеризуются способностью проникать в участки организма с повышенной проницаемостью стенки сосуда. Наиболее распространенным способом получения длительно циркулирующих липосом является ковалентное присоединение гидрофильного полимера полиэтиленгликоля (PEG) к  
10 внешней поверхности липосомы. Некоторые из предпочтительных липидов представляют собой: 1,2-дипальмитоил-sn-глицеро-3-фосфоэтанолламин-N-метокси(полиэтиленгликоль)-2000] (соль аммония), 1,2-дипальмитоил-sn-глицеро-3-фосфоэтанолламин-N-[метокси(полиэтиленгликоль)-5000] (соль аммония), 1,2-диолеоил-3-триметиламмоний-пропан (соль хлорид) (DOTAP).

15 Возможные липиды, пригодные для липосом, поставляет Avanti, Polar Lipids, Inc, Alabaster, AL. Кроме того, суспензия липосом может включать в себя защищающие липид средства, которые защищают липиды против повреждения свободными радикалами и перекисного повреждения липидов при хранении. Предпочтительными  
20 являются липофильные гасители свободных радикалов, такие как альфа-токоферол и водорастворимые специфические для железа хелаторы, такие как ферриоксианин.

Для получения липосом доступно множество способов, как описано, например, в Szoka et al., Ann. Rev. Biophys. Bioeng. 9:467 (1980), патентах США №№ 4235871, 4501728 и 4837028, все из которых приведены здесь в качестве ссылки. Другим  
25 способом получают многослойные везикулы неоднородного размера. По этому способу формирующие везикулу липиды растворяют в подходящем органическом растворителе или системе растворителей и высушивают в вакууме или в инертном газе для формирования тонкой липидной пленки. Если желательно, пленку можно  
30 повторно растворять в подходящем растворителе, таком как третичный бутанол, и затем лиофилизировать для получения более гомогенной смеси липидов, существующей в более просто гидратируемой порошкообразной форме. Эту пленку покрывают водным раствором намеченного лекарственного средства и намеченного компонента, и оставляют поглощать воду, как правило, в течение периода 15-60  
35 минут с перемешиванием. Распределение размеров полученных многослойных везикул можно сдвигать к меньшим размерам посредством гидратации липидов в условиях более энергичного перемешивания или посредством добавления солюбилизующих детергентов, таких как дезоксихолат.

40 Поверхностно-активные вещества (или сурфактанты) (молекулы, содержащие гидрофобную часть и одну или несколько ионных или иным образом сильно гидрофильных групп) в водном растворе формируют мицеллы.

В мицеллах по настоящему изобретению можно использовать общепринятые поверхностно-активные вещества, хорошо известные специалисту в данной области.  
45 Подходящие поверхностно-активные вещества включают в себя лауреат натрия, олеат натрия, лаурилсульфат натрия, монододециловый эфир октаоксиэтиленгликоля, октоксинаол 9 и плюроник F-127 (Wyandotte Chemicals Corp.). Предпочтительными поверхностно-активными веществами являются неионные полиоксиэтиленовые и  
50 полиоксипропиленовые детергенты, совместимые с IV инъекцией, такие как TWEEN-80, плюроник F-68, n-октил-бета-D-глюкопиранозид, и т.п. Кроме того, фосфолипиды, такие как описаны для использования для получения липосомы, также можно использовать для формирования мицелл.

В некоторых случаях предпочтительно включать соединение, способствующее доставке активного вещества к его мишени.

#### Режимы дозирования

5 Препараты вводят способом, совместимым с составом дозы, и в таком количестве, которое будет терапевтически эффективным. Количество, подлежащее введению, зависит от подлежащего лечению субъекта, включая, например, массу и возраст субъекта, подлежащего лечению заболевание и стадию заболевания. Подходящие диапазоны дозирования на килограмм массы тела обычно составляют порядка 10 нескольких сотен мкг активного ингредиента на введение с предпочтительным диапазоном от приблизительно 0,1 мкг до 10000 мкг на килограмм массы тела. При использовании мономерных форм соединений подходящие дозы часто лежат в диапазоне от 0,1 мкг до 5000 мкг на килограмм массы тела, например, в диапазоне от 15 приблизительно 0,1 мкг до 3000 мкг на килограмм массы тела и особенно в диапазоне от приблизительно 0,1 мкг до 1000 мкг на килограмм массы тела. При использовании многомерных форм соединений подходящие дозы часто лежат в диапазоне от 0,1 мкг до 1000 мкг на килограмм массы тела, например, в диапазоне от приблизительно 0,1 мкг до 750 мкг на килограмм массы тела, и особенно в диапазоне от 20 приблизительно 0,1 мкг до 500 мкг на килограмм массы тела, например, в диапазоне от приблизительно 0,1 мкг до 250 мкг на килограмм массы тела. Предпочтительная доза будет составлять от приблизительно 0,1 до приблизительно 5,0 мг, предпочтительно от приблизительно 0,3 мг до приблизительно 3,0 мг, например, от 25 приблизительно 0,5 до приблизительно 1,5 мг и особенно в диапазоне от 0,8 до 1,0 мг на введение. Введение можно проводить один раз, или за ним могут следовать последующие введения. Доза будет также зависеть от способа введения и будет меняться с возрастом, полом и массой подлежащего лечению субъекта. Предпочтительная доза многомерных форм будет лежать в интервале от 1 мг до 70 мг 30 на 70 килограмм массы тела.

Подходящие ежедневные диапазоны дозирования на килограмм массы тела обычно составляют порядка нескольких сотен мкг активного ингредиента в сутки с предпочтительным диапазоном от приблизительно 0,1 мкг до 10000 мкг на килограмм массы тела в сутки. При использовании мономерных форм соединений подходящие 35 дозы часто лежат в диапазоне от 0,1 мкг до 5000 мкг на килограмм массы тела в сутки, например, в диапазоне от приблизительно 0,1 мкг до 3000 мкг на килограмм массы тела в сутки, и особенно в диапазоне от приблизительно 0,1 мкг до 1000 мкг на килограмм массы тела в сутки. При использовании многомерных форм соединений 40 подходящие дозы часто лежат в диапазоне от 0,1 мкг до 1000 мкг на килограмм массы тела в сутки, например, в диапазоне от приблизительно 0,1 мкг до 750 мкг на килограмм массы тела в сутки, и особенно в диапазоне от приблизительно 0,1 мкг до 500 мкг на килограмм массы тела в сутки, например, в диапазоне от 45 приблизительно 0,1 мкг до 250 мкг на килограмм массы тела в сутки. Предпочтительная доза будет составлять от приблизительно 0,1 до приблизительно 100 мкг, предпочтительно от приблизительно 0,1 мкг до 50 мкг, например, от приблизительно 0,3 до приблизительно 30 мкг и особенно в диапазоне от 1,0 до 10 мкг на килограмм массы тела в сутки. Введение 50 можно проводить один раз, или за ним могут следовать последующие введения. Доза будет также зависеть от способа введения и будет меняться с возрастом, полом и массой подлежащего лечению субъекта. Предпочтительная доза многомерных форм будет лежать в интервале от 1 мг до 70 мг на 70 килограмм массы тела в сутки.

## Медицинская упаковка

Соединения, применяемые по изобретению, можно вводить самостоятельно или в сочетании с фармацевтически приемлемыми носителями или наполнителями, либо в однократной, либо во множественных дозах. Составы можно легко получать в стандартной лекарственной форме посредством способов, известных специалистам в данной области.

Предпочтительным является получать соединения по изобретению в наборе. Такой набор, как правило, содержит активное соединение в лекарственных формах для введения. Лекарственная форма содержит достаточное количество активного соединения, так что при введении субъекту можно получить желаемый эффект.

Таким образом, предпочтительно, чтобы медицинская упаковка содержала количество единиц дозирования, соответствующее подходящему режиму дозирования. Соответственно, в одном варианте осуществления медицинская упаковка содержит фармацевтическую композицию, содержащую соединение, как определено выше, или его фармацевтически приемлемую соль и фармацевтически приемлемые носители, связующие и/или наполнители, где указанная упаковка содержит от 1 до 7 единиц дозирования, таким образом, обладая единицами дозирования для одних или нескольких суток, или от 7 до 21 единиц дозирования, или кратные им, таким образом, обладая единицами дозирования для одной недели введения или нескольких недель введения.

Единицы дозирования могут являться такими, как определено выше. Медицинская упаковка может существовать в любой форме, подходящей для интратрахеального, интрабронхиального или интраальвеолярного введения. В предпочтительном варианте осуществления упаковка существует в форме флакона, ампулы, тубика, блистерной упаковки, картриджа или капсулы.

Когда медицинская упаковка содержит более одной единицы дозирования, является предпочтительным изготавливать медицинскую упаковку с механизмом регулирования каждого введения только для одной единицы дозирования.

Предпочтительно, набор содержит инструкции с указанием применения лекарственной формы для достижения желаемого эффекта и количество лекарственной формы для введения в течение указанного периода времени.

Соответственно, в одном варианте осуществления медицинская упаковка содержит инструкции для введения фармацевтической композиции.

### Примеры

#### Пример 1

Протокол местного лечения легких TFPI посредством бронхоальвеолярного лаважа (BAL)

#### I. Группа пациентов, подлежащих лечению:

Пациенты с пневмонией, связанной с искусственной вентиляцией вторичной по отношению к бактериальной пневмонии вызванной стрептококком, пневмоцистной пневмонией (PCP) или с другими типами пневмонии, или с ARDS вторичным по отношению к сепсису, с диссеминированной внутрисосудистой коагуляцией (DIC), травмой, аспирационным пневмонитом легких, тяжелым панкреатитом, или с вызванным блеомицином ARDS с текущим лечением искусственной вентиляцией, с развитием ARDS с уменьшенной кислородной емкостью, выявленной по снижению соотношению  $PaO_2/FiO_2$ , т.е.  $<200$  мм рт. ст. (артериальное давление кислорода в мм рт. ст. к фракции вдыхаемого кислорода), несмотря на лечение антибиотиками, направленными на выделенные микробиологические агенты, или лечение лежащего в

основе заболевания.

II. Режим лечения:

Местное введение 5 мг TFPI, растворенного в 20 мл нормального физиологического раствора, посредством бронхоальвеолярного лаважа (BAL).

III. Анализ результатов:

а) Мониторинг кислородной емкости в соответствии с мониторингом соотношения  $PaO_2/FiO_2$  (артериальное давление кислорода в мм рт. ст. к фракции вдыхаемого кислорода). Успешное лечение приводит к увеличению кислородной емкости с соотношением  $PaO_2/FiO_2$ , т.е.  $>200$  мм рт. ст.

б) Рентгенография поля легкого до и после лечения. В случае, если пациенты обладают инфильтрациями в легкое, успешное лечение приводит к уменьшению этих инфильтраций, что контролируется посредством рентгенографии.

Пример 2

Протокол местного лечения легких TFPI посредством ингаляции

I. Группа пациентов, подлежащих лечению:

Пациенты с пневмонией, связанной с искусственной вентиляцией вторичной по отношению к бактериальной пневмонии вызванной стрептококком, пневмоцистной пневмонии или с другими типами пневмонии, или с ARDS вторичным по отношению к сепсису, с диссеминированной внутрисосудистой коагуляцией (DIC), с травмой или с аспирационным пневмонитом легких или с тяжелым панкреатитом, или с вызванным блеомицином ARDS с текущим лечением искусственной вентиляцией, с развитием ARDS с уменьшенной кислородной емкостью, выявленной по сниженному соотношению  $PaO_2/FiO_2$ , т.е.  $<200$  мм рт. ст. (артериальное давление кислорода в мм рт. ст. к фракции вдыхаемого кислорода), несмотря на лечение антибиотиками, направленными на выделенные микробиологические агенты, или лечение лежащего в основе заболевания.

II. Режим лечения:

Местное введение 3x5 мг TFPI посредством распылителя (Aeroneb®).

III. Анализ результатов:

а) Мониторинг кислородной емкости в соответствии с мониторингом соотношения  $PaO_2/FiO_2$  (артериальное давление кислорода в мм рт. ст. к фракции вдыхаемого кислорода). Успешное лечение приводит к увеличению кислородной емкости с соотношением  $PaO_2/FiO_2$ , т.е.  $>200$  мм рт. ст.

б) Рентгенография поля легкого до и после лечения. В случае, если пациенты обладают инфильтрациями в легкое, успешное лечение приводит к уменьшению этих инфильтраций, что контролируется посредством рентгенографии.

### Формула изобретения

1. Применение человеческого ингибитора тканевого фактора (TFPI) или его биологически активного TFPI гомолога, обладающего более чем 90%-ной идентичностью последовательности TFPI, в качестве единственного активного ингредиента для изготовления лекарственного средства для лечения или снижения риска внесосудистого отложения фибрина в альвеолярном или бронхоальвеолярном пространстве у человека посредством введения через дыхательный путь с помощью интратрахеального, интрабронхиального или интраальвеолярного введения.

2. Применение по п.1, в котором отложение фибрина вызвано воспалительным заболеванием легких.

3. Применение по п.2, в котором воспалительное заболевание легких выбрано из

группы, состоящей из: ALI, ARDS, пневмонии, острых бронхоальвеолярных заболеваний, хронических бронхоальвеолярных заболеваний, фиброзирующего альвеолита или бронхиальной астмы.

5 4. Применение по п.2, в котором воспалительное заболевание легких относится к состоянию, выбранному из группы, состоящей из: прямой или непрямой травмы легких, аспирационного пневмонита, сепсиса, тяжелого сепсиса и/или септического шока.

10 5. Применение по п.1, в котором ингибитор тканевого фактора вводят посредством бронхоальвеолярного лаважа с раствором ингибитора тканевого фактора.

6. Применение по п.1, в котором ингибитор тканевого фактора вводят слепым промыванием трахеи раствором ингибитора тканевого фактора.

15 7. Применение по п.1, в котором ингибитор тканевого фактора вводят посредством ингаляции распыленным раствором ингибитора тканевого фактора.

15 8. Применение по п.1, в котором ингибитор тканевого фактора вводят осуществлением ингаляции ингибитором тканевого фактора в форме распыленного порошка.

20 9. Применение по п.1, в котором ингибитор тканевого фактора вводят прямым введением ингибитора тканевого фактора во время бронхоскопии.

10. Применение по п.1, в котором человек является взрослым.

11. Применение по п.1, в котором человек является ребенком.

12. Применение по п.1, в котором TFPI вводят в количестве от 0,1 мкг/кг до приблизительно 10 мг/кг массы тела в сутки.

25 13. Применение по п.2, в котором воспалительное заболевание легких выбрано из ALI и ARDS.

14. Лекарственное средство для лечения или снижения риска внесосудистого отложения фибрина в воздушных путях, в частности в альвеолярном или  
30 бронхоальвеолярном пространстве, у человека посредством введения через дыхательный путь с помощью интратрахеального, интрабронхиального или интраальвеолярного введения, отличающееся тем, что указанное лекарственное средство содержит человеческий ингибитор тканевого фактора (TFPI) или его биологически активный TFPI гомолог, обладающий более чем 90%-ной  
35 идентичностью последовательности TFPI в качестве единственного лекарственного средства.

40

45

50

## СПИСОК ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ

<110> Drugrecure ApS  
 <120> Введение в дыхательные пути ингибитора тканевого фактора при  
 воспалительных состояниях, поражающих дыхательные пути  
 <130> P1168PC00  
 <150> 60/693,968  
 <151> 2005-06-24  
 <160> 1  
 <170> PatentIn version 3.3  
 <210> 1  
 <211> 276  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens  
 <400> 1

Asp Ser Glu Glu Asp Glu Glu His Thr Ile Ile Thr Asp Thr Glu Leu  
 1 5 10 15

Pro Pro Leu Lys Leu Met His Ser Phe Cys Ala Phe Lys Ala Asp Asp  
 20 25 30

Gly Pro Cys Lys Ala Ile Met Lys Arg Phe Phe Phe Asn Ile Phe Thr  
 35 40 45

Arg Gln Cys Glu Glu Phe Ile Tyr Gly Gly Cys Glu Gly Asn Gln Asn  
 50 55 60

Arg Phe Glu Ser Leu Glu Glu Cys Lys Lys Met Cys Thr Arg Asp Asn  
 65 70 75 80

Ala Asn Arg Ile Ile Lys Thr Thr Leu Gln Gln Glu Lys Pro Asp Phe  
 85 90 95

Cys Phe Leu Glu Glu Asp Pro Gly Ile Cys Arg Gly Tyr Ile Thr Arg  
 100 105 110

Tyr Phe Tyr Asn Asn Gln Thr Lys Gln Cys Glu Arg Phe Lys Tyr Gly  
 115 120 125

Gly Cys Leu Gly Asn Met Asn Asn Phe Glu Thr Leu Glu Glu Cys Lys  
 130 135 140

Asn Ile Cys Glu Asp Gly Pro Asn Gly Phe Gln Val Asp Asn Tyr Gly  
 145 150 155 160

Thr Gln Leu Asn Ala Val Asn Asn Ser Leu Thr Pro Gln Ser Thr Lys  
 165 170 175

Val Pro Ser Leu Phe Glu Phe His Gly Pro Ser Trp Cys Leu Thr Pro  
 180 185 190

Ala Asp Arg Gly Leu Cys Arg Ala Asn Glu Asn Arg Phe Tyr Tyr Asn  
 195 200 205

Ser Val Ile Gly Lys Cys Arg Pro Phe Lys Tyr Ser Gly Cys Gly Gly  
 210 215 220

Asn Glu Asn Asn Phe Thr Ser Lys Gln Glu Cys Leu Arg Ala Cys Lys  
 225 230 235 240

Lys Gly Phe Ile Gln Arg Ile Ser Lys Gly Gly Leu Ile Lys Thr Lys  
 245 250 255

Arg Lys Arg Lys Lys Gln Arg Val Lys Ile Ala Tyr Glu Glu Ile Phe  
 260 265 270

Val Lys Asn Met  
 275