



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **114482** (13) **C2**

(51) МПК (2017.01)

A61K 47/42 (2017.01)

A61K 9/00

A61P 35/00

A61P 11/00

A61K 38/19 (2006.01)

A61K 31/4188 (2006.01)

A61K 31/70 (2006.01)

МІНІСТЕРСТВО
ЕКОНОМІЧНОГО
РОЗВИТКУ І ТОРГІВЛІ
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

(21) Номер заявки: а 2014 02021	(72) Винахідник(и): де Сантіс Піта (ІТ)
(22) Дата подання заявки: 25.07.2012	(73) Власник(и): СІГМА-ТАУ ІНДУСТРІЄ ФАРМАСЬЮТИКЕ РІУНІТЕ С.П.А., Viale Shakespeare, 47, I-00144 Rome, Italy (ІТ)
(24) Дата, з якої є чинними права на винахід: 26.06.2017	(74) Представник: Мошинська Ніна Миколаївна, реєстр. №115
(31) Номер попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції: 11006338.5	(56) Перелік документів, взятих до уваги експертизою: WO 2009016031 A1, 05.02.2009 EP 2106806 A1 07.10.2009 Boerman Otto C et al: "Pretargeted radioimmunotherapy of cancer: Progress step by step", Journal of nuclear medicine, society of nuclear medicine, Reston, VA, US, vol. 44, no. 3, - 1 March 2003. - P. 400-411
(32) Дата подання попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції: 02.08.2011	
(33) Код держави-учасниці Паризької конвенції, до якої подано попередню заявку: EP	
(41) Публікація відомостей про заявку: 10.04.2014, Бюл.№ 7	
(46) Публікація відомостей про видачу патенту: 26.06.2017, Бюл.№ 12	
(86) Номер та дата подання міжнародної заявки, поданої відповідно до Договору РСТ РСТ/EP2012/064576, 25.07.2012	

(54) ФАРМАЦЕВТИЧНА КОМПОЗИЦІЯ ОКИСЛЕНОГО АВІДИНУ, ЯКА ПІДХОДИТЬ ДЛЯ ІНГАЛЯЦІЇ

(57) Реферат:

Винахід належить до застосування окисленого авідину як агента для кондиціонування легенів шляхом інгаляції.

UA 114482 C2

ОБЛАСТЬ ТЕХНІКИ

Даний винахід відноситься до нового фармацевтичного складу окисненого авідину або комплексу "біотинильований терапевтичний засіб/окислений авідин" для застосування для інгаляції. Також даний винахід відноситься до біотинильованого терапевтичного засобу для націленого застосування на попередньо підготовлених легенях у ссавців, уражених неоперабельними та/або дифузними захворюваннями.

РІВЕНЬ ТЕХНІКИ

Вдихання розпиленних терапевтичних засобів є поширеним способом доставки лікарського засобу для лікування легеневих захворювань, таких як астма або легеневі інфекції, або інших респіраторних захворювань. Проте, такий спосіб введення зазвичай вимагає повторення лікувальних процедур по декілька разів на день, що не завжди відповідає стану здоров'я пацієнта, який залежить від захворювання, яким страждає пацієнт, або від ступеня тяжкості такого захворювання. Також часті інгаляції терапевтичних засобів є причиною сильного стресу, що скорочує тривалість життя. Безперервна небулайзерна терапія β_2 -агоністів є такою альтернативною терапією, яка підходить для пацієнтів, що страждають від важкої астми (Raabe O.G., et al, Ann. Allergy Asthma Immunol., 1998, 80, 499). Проте, навіть у цьому випадку терапія займає багато часу та приносить ряд незручностей в життя пацієнта.

В даний час серйозні легеневі захворювання, такі як рак легенів або муковісцидоз, лікують в основному за допомогою системної терапії, яка, на жаль, пов'язана зі значними побічними ефектами.

Анатомія та фізіологія легень добре пристосовані для обробки екзогенними речовинами шляхом їхнього розпилення з метою захисту органу. Також встановлено, що у випадку добровільного лікування шляхом інгаляції терапевтичних засобів, останні швидко виводяться, тим самим надаючи негативний вплив та обмежуючи перевагу інгаляційної терапії.

Крім того, добре відомо, що в легенях також є наявними ферменти, націлені на детоксикацію органів у результаті впливу агресивних зовнішніх умов. Деякі із зазначених ферментів, які мають важливе значення у функціонуванні легенів, належать до суперсімейства білків (тобто, AKR (aldoketoreductase - альдокеторедуктаз)). AKR та коротколанцюгові дегідрогенази/редуктази (тобто, SDRs) є основними ферментами, які каталізують окислювально-відновні реакції за участю карбоніла ксенобіотиків. Серед представників суперсімейства SDR карбонілредуктази (тобто, CBRs) демонструють широку субстратну специфічність для карбонільмісних ксенобіотиків (Matsunaga T., et al, Drug Metab. Pharmacokinet., 2006, 21, 1, 1).

Спроби місцевої доставки хіміотерапевтичних лікарських засобів за допомогою аерозолі недавно описувалися в доклінічних моделях раку легенів, що показують знижену токсичність порівняно з системним введенням (Fulzele, S.V., et al, J. Pharm. Pharmacol., 2006, 58, 3, 327).

Нещодавно повідомлялося про склад для інгаляції у вигляді сухого порошку темозоломіду. Для даного складу потрібне зменшення розміру частинок для вивільнення 51 % введеної дози (Wauthoz N., et al., Pharm. Res., 2011, 28, 762), а також наявності біосумісних та фосфоліпідів, що біорозкладаються, як поверхнево-активних речовин, для стабілізації водної суспензії темозоломіду (Wauthoz N., et al., Eur. J. Pharm. Sci, 2010, 39, 402).

Фазу I клінічних випробувань за участю цисплатину проводили для дослідження безпеки та фармакокінетики цисплатину у вигляді аерозольної ліпідної лікарської форми націленої дії для інгаляції з уповільненим вивільненням (SLIT) у пацієнтів з карциномою легень. Проте, в даному дослідженні (Wittgen B.P.H., et al., Clin. Cancer Res., 2007, 13, 2414) спостерігався ряд побічних ефектів (тобто, нудота, блювота, задишка, апатія та хрипота).

Лікування собак розпиленням 5-фторурацилу показало, що лікарський засіб може досягати дуже високих концентрацій переважно в трахеї, в меншій мірі в бронхах і стравоході і знижених концентрації (тобто, на рівні однієї п'ятидесятої від спостережуваної в трахеї) у лімфатичних вузлах на рівні бронхів (Tatsumura T., et al., Br. J. Cancer, 1993, 68, 1146).

Проте, дифузія таких невеликих молекул аерозольних лікарських засобів в крові залишається актуальним питанням разом з потребою в повторних введеннях через нетривалий період напіввиведення зазначених молекул з легень.

Аерозоль для доставки генів являє собою інший спосіб націленої терапії легеневих захворювань, який давно використовується. Після клонування гена муковісцидозу спостерігався значний інтерес до неінвазивної доставки генів безпосередньо до легеневої поверхні за допомогою аерозолі. Даний підхід може мати застосування при неоперабельному раку легенів, а також найбільш ранніх спробах, зосереджених, головним чином, на використанні невірусних векторів, переважно, катіонних ліпідів та інших допоміжних речовин для приготування складів (Densmore C.L., et al., J. Gene Med, 1999, 1, 4, 251; Densmore C.L., et al., Mol. Ther., 2000, 1, 2,

180). На жаль, поперечні сили розпилення, недостатнє поглинання в легенях і недостатній час утримування аерозольних білкових терапевтичних засобів сумісно з низькою експресією генетичних векторів, як правило, призводять до слабого терапевтичного ефекту (Schwarz, L. A., et al, Hum. Gene Ther., 1996, 7, 731). Відповідно, в останні роки інтерес до доставки в легені біологічно активних похідних, що містять білки, за допомогою аерозолів, знизився.

Хоча інгаляція терапевтичних білків вважалася переважним рішенням для націленої терапії легень, визначення можливого для розпилення складу білка, залишається важливим завданням. Фактично, для успішного проникнення аерозольної речовини вглиб легень, потрібний ретельний підбір добавок і вибір розміру частинок (тобто, до 3 мкм) Choi W.S., et al., Proc. Natl. Acad. Sci., 98, 20, 11103) Крім того, в процесі розпилення може бути змінена не тільки четвертинна, але також вторинна та третинна структури білка. Для усунення даного недоліку Аракава Т. (Arakawa T.) зі співавторами описали застосування поліетиленгліколю та/або поверхнево-активної речовини для збереження зазначеної структурної конформації перед розпиленням (WO199503034).

Останнім часом також були описані щеплені різними способами наночастинки націленої дії в легенях, призначені для введення в формі аерозолів, які здатні нести різні протиракові лікарські засоби, але також повідомлялося, що вони призводять до деяких запальних недоліків (Dailey L.A., et al., Toxicol. Appl. Pharmacol., 2006, 215, 1, 100).

Нещодавно була описана система доставки наночастинок на основі полімеру шляхом інгаляції (WO2009121631), в якій частинки вводили мишам шляхом ендотрахеальної інстиляції.

Борлак Д. (Borlak J.) зі співавторами (EP2106806) описують поліпшену систему доставки лікарських засобів в легені, що містить:

- частинки на основі полімеру,
- молекулярний лінкер на основі малеїміду,
- агент націленої дії, такий як антитіло, низькомолекулярну сполуку або білок (переважно ковалентно зв'язаний з лінкером),
- лікарський засіб.

Такі наночастинки мають середній розмір від 150 до 180 нм. Відповідно до тверджень авторів винаходу, в такій системі доставки використовується перевага молекулярного лінкера, що містить ліпофільний фрагмент, який нековалентно кріпиться до частинок полімерної матриці, і другий фрагмент, що містить малеїмід, до якого можна прив'язати агент націленої дії. Також відповідно до тверджень авторів винаходу, агент націленої дії може бути частиною зв'язаної пари, такої як авідин-біотин. Проте, конкретні варіанти реалізації за участю пари авідин-біотин не описані в цьому документі належним чином.

Раніше повідомлялося, що склади на основі етанолу підходять для розпилення білків з біологічною активністю, включаючи ферменти (Choi W.S., et al., Proc. Natl. Acad. Sci., 2001, 98, 20, 11103). Проте, були описані тільки дуже нетривалі періоди інгаляції етанолу (тобто, 10 хвилин), оскільки більш тривалі інгаляції можуть призводити до запальних побічних ефектів.

З цієї причини, а також відповідно до опису, наведеному вище у даній заявці, фізичне напруження, притаманне розпиленню, в поєднанні з утворенням великої площі границі розділу повітря-вода може дестабілізувати структуру багатьох білків.

Введення [¹¹¹In]-авідину та [^{99m}Tc]-біотин-ліпосом через плевру було описано та визнано переважним способом націленої дії в середньостінних легеневиx вузлах у порівнянні з внутрішньочеревним введенням (Medina L.A., et al, Nucl. Med. Biol., 2004, 31, 1, 41). Проте, ін'єкція в плевральну порожнину має на увазі інвазивні процедури та не підходить для забезпечення рівномірного розподілу в тканинах легень. Фактично, мета роботи Медіна (Medina) полягала в націленій дії в середньостінних легеневиx вузлах. Крім

того, для поліпшення фармакокінетичних і фармакодинамічних відрізняльних ознак потрібне отримання ліпосом з міченим біотином.

Таким чином, в медицині існує гостра потреба в забезпеченні конкретного способу безпосередньої доставки до легень, уражених хворобою, ефективної кількості терапевтичного засобу для усунення обмежуючих факторів, пов'язаних з:

пероральною доставкою (наприклад, питання проникності лікарських засобів, ефекту першого проходження); та/або

іншими системними способами доставки лікарських засобів, які можуть розглядатися в разі відсутності токсичних побічних ефектів та/або швидкого виведення; та/або нестабільності терапевтичних засобів, пов'язаної зі способами їхнього введення та/або

метаболічними процесами; та/або

необхідності багаторазового щоденного введення терапевтичних засобів.

У даному винаході було несподівано виявлено, що окислений авідин, що вводиться шляхом інгаляції, рівномірно зв'язується з поверхнею епітеліальних клітин легенів аж до альвеол, а також було встановлено, що він очікувано зв'язується з верхніми дихальними шляхами (наприклад, трахеєю). Також було абсолютно несподівано виявлено, що окислений авідин не зв'язується з поверхневими тканинами, такими як тканини шкіри, очей або сечового міхура, поки зазначені поверхні залишаються неушкодженими. Також було несподіваним, що при даному способі введення зберігається хімічна цілісність білка.

ОПИС ВИНАХОДУ

Даний винахід відноситься до фармацевтичної композиції для інгаляції, що містить окислений авідин або комплекс біотинильованого терапевтичного засобу/окисленого авідину, для націленої доставки біотинильованих терапевтичних засобів до легень шляхом інгаляції. Також даний винахід відноситься до доставки окисленого авідину у формі аерозолю як способу кондиціонування легень для виявлення біотинильованих терапевтичних засобів, що підходять для лікування раку легень, астми, туберкульозу, хронічної обструктивної хвороби легень (ХОХЛ), альвеоліту легень, муковісцидозу та дефіциту альфа-1-антитрипсину.

Біотинулювання білків, клітин і нуклеїнових кислот являє собою добре відому в даній області техніки біохімічну процедуру. Біотинулювання можна проводити за допомогою взаємодії ряду різних комерційно доступних реагентів з різними групами (тобто, первинними та вторинними амінами, сульфгідрильними та карбоксильними групами і т.п.). Реагенти для біотинулювання є дуже гнучкими (великі міжатомні відстані для зниження стеричних утруднень) або легко видаляються (для вивільнення активних фрагментів), а також широко використовуються для націленої дії функціональних біотинильованих фрагментів в білках сімейства авідину. Зокрема, біотинулювання білків широко використовується для моноклональних антитіл та інших функціональних білків (Bayer E.A., et al, *Methods Enzymol*, 1990b, 184, 138).

Підходящі біотинильовані протиракові терапевтичні засоби вибирають з групи, що включає, наприклад, моноклональне антитіло IgG1, яке специфічно зв'язується з рецептором епідермального фактора росту (EGFR), таке як біотинильований цетуксимаб (Hama Y., et al, *Cancer Res.*, 2007, 67, 3809). Також біотинильовані протиракові терапевтичні засоби являють собою, наприклад, біотинильовані адукти антитіла до c-Met (Stella G.M., et al, *Expert. Opin. Investig. Drugs*, 2010, 19, 11, 1381); до ФРГ (фактор росту гепатоцитів) (Okamoto W., et al, *Mol Cancer Ther.*, 2010, 9, 10, 2785); до CTLA4 (антиген 4 цитотоксичних Т лімфоцитів) (Di Giacomo A.M., *Cancer Immunol. Immunother.*, 2009, 58, 8, 1297); до ФРЕС (фактор росту ендотелію судин) (Ferrara N., et al, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2005, 333, 2, 328); до ЕРСМ (адгезивна молекула епітеліальних клітин) (Kurtz J.E., et al, *Expert. Opin. Biol. Ther.*, 2010, 10, 6, 951); до HER2 (рецептор епідермального фактора росту людини) моноклональні антитіла (Smith B.L., et al, *Br. J. Cancer*, 2004, 91, 6, 1190); до ФНП (фактор некрозу пухлини) (Balkwill F., *Nat. Rev. Cancer*, 2009, 9, 5, 361), TRAIL (ФНП-залежний ліганд, який індукує апоптоз) (Kim T.H., et al, *Bioconjug. Chem.*, 2011) або інші цитокіни, такі як ІЛ-2 (інтерлейкін-2) (Herberman R., *Cancer Invest.*, 1989, 7, 5, 515; Kotten J.W., et al, *Cytokine*, 2003, 24, 3, 57); Г-КСФ (гранулоцитарний колонієстимулюючий фактор) (Cavalloni G., et al, *Anticancer Drugs*, 2008, 19, 7, 689); ГМ-КСФ (гранулоцитарно-макрофагний колонієстимулюючий фактор) (He Q., et al, *Cancer Immunol. Immunother.*, 2011, 60, 5, 715); ІЛ-12 (Penichet M.L., et al, *J. Immunol. Methods*, 2001, 248, 1-2, 91; Adris S., et al, *Cancer Res.*, 2000, 60, 23, 6696); ІЛ-12 (Penichet M.L., et al, *J. Immunol. Methods*, 2001, 248, 1-2, 91; Adris S., et al, *Cancer Res.*, 2000, 60, 23, 6696); гама-інтерферон (Weiner L.M., *Mol. Biother.*, 1991, 3, 4, 186). Як відомо, такі терапевтичні засоби блокують реплікацію пухлинних клітин, викликають загибель пухлинних клітин та/або стимулюють протиракову імунну відповідь. Тим не менш, з системним застосуванням зазначених сполук пов'язані токсичні побічні ефекти. Отже, стабільною є локалізація біотинильованого терапевтичного засобу в легенях за умови:

його доставки за допомогою аерозолю шляхом інгаляції окисленого авідину, або при інгаляції комплексу біотинильованого терапевтичного засобу/окисленого авідину, у разі сумісності розпилення з цілісністю і біологічним функціонуванням терапевтичного засобу або комплексу; або при

його системній доставці (наприклад, шляхом парентерального введення) шляхом інгаляції окисленого авідину,

дозволить знизити терапевтичну дозу та мінімальний системний вплив зазначених засобів, таким чином покращуючи їхній терапевтичний індекс. Даний винахід також відноситься до розпилюваного окисленого авідину для застосування для націленої дії в легенях біотинильованих протиракових ефекторних клітин, вірусних або плазмідних векторів (D'Atri S., et al., *Immunopharmacoi*, 1991, 21,2, 199; Densmore C.L., *Curr. Cancer Drug Targets*, 2003, 3, 4, 275).

Даний винахід також відноситься до аерозольної доставки окисленого авідину як підходящого способу кондиціонування легенів для виявлення протизапальних біотинильованих терапевтичних засобів. Підходящі протизапальні біотинильовані терапевтичні засоби включають, наприклад, біотинильовані адукти моноклональних антитіл до ФНП, до Tweak, до IL-6, до IL-23, до IL-17; IL-10 або інші протизапальні цитокіни (Marchi E., et al, Chest, 2011) або хемокини (Farberman M.M., et al, Am. J. Respir. Cell Mol. Biol, 2010; Tauler J., et al., Curr. Opin. Pharmacol., 2009, 9, 4, 384; Hartl D., et al., Curr. Opin. Allergy Clin. Immunol., 2009, 9, 1, 60; Brennan S., et al., Eur. Respir. J., 2009, 34, 3, 655) для лікування астми, альвеоліту легенів або інших форм хронічних запалень легенів. Також припускається, що доставка біотинильованих ферментів, таких як альфа-1-антитрипсин, до легень шляхом розпилення окисленого авідину дозволяє лікувати недостатності первинної генетичної інформації (Brand P., et al., Eur. Respir. J., 2009, 34, 2, 354; Geller D.E., et al., J. Aerosol Med. Pulm. Drug Deliv., 2010, 23 Suppl 1, S55) і білка муковісцидозного трансмембранного регулятора провідності (МТРП) для лікування муковісцидозу (Sloane P.A., et al., Curr. Opin. Pulm. Med., 2010, 16, 6, 591; Frizzell R.A., Am. J. Respir. Crit. Care Med, 1995, 151, S54).

Система авідин-біотин відома протягом багатьох років, як винятковий засіб для якісних і кількісних досліджень взаємодій між малими молекулами та біологічними рецепторами (Wilchek, M., Methods Enzymol., 1990, 184, 14).

Авідин являє собою глікопротеїн з молекулярною масою приблизно 68 кДа, що міститься в білку яєць птахів і демонструє високу спорідненість до вітаміну Н, біотину.

и if

Його константа дисоціації ($K_a \sim 10^{-15}$ М) є найнижчою з відомих у природі (Green, N.M., Adv. Protein Chem., 1975, 29, 85; Hytonen V.P., et al, Biochem. J., 2003, 372, Ptl, 219). Авідин складається з чотирьох субодиниць однакової послідовності амінокислот, кожна з яких здатна зв'язуватися з однією молекулою біотину. Глікозилювання становить приблизно 10 % від його молекулярної маси при середньому вмісті в субодиниці від чотирьох до п'яти залишків манози і трьох залишків N-ацетилглюкозаміну (Bruch R.C., et al., Biochemistry, 1982, 21, 21, 5334).

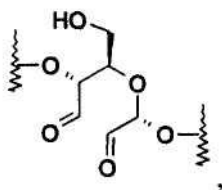
У міжнародній заявці на патент WO2009016031 під авторством заявника, вперше повідомлялося про хімічно окислений авідин, який був названий OXaviditi_{НАВА} (який в даній заявці називається окисленим авідином), який мав більш високу стабільність при введенні в тканини в порівнянні з авідином дикого типу внаслідок утворення хімічних зв'язків між альдегідними групами окисленого авідину та аміногрупами білків тканини. Зазначений окислений авідин можна вводити безпосередньо в уражену тканину індивідуально, що вимагає наявності другої стадії для доставки біотинильованого активного терапевтичного засобу, або у вигляді комплексу з терапевтичним засобом. Важливо відзначити, що в зазначеному документі окислений авідин вводили місцево шляхом ін'єкції, що робить непрактичним однорідне кондиціонування легенів. Дана заявка на патент дає початок новому етапу досліджень шляхом опису нових способів, які підходять для локалізованого лікування солідних ракових пухлин і дегенеративних або генетичних захворювань. Також нещодавно повідомлялося про переносимість окисленого авідину (Petronzelli F., et al., Basic Clin. Pharmacol. Toxicol., 2011, 233).

Проте, навіть зазначений новий засіб не дозволяє вирішити проблему таких дифузних та/або неоперабельних легеневих захворювань, зокрема, з причини особливості тканини легенів, що полягає в утрудненні лікування за допомогою ін'єкцій, а також непридатності хірургічних процедур для досягнення важкодоступних областей ураженої тканини. Зокрема, бронхіолоальвеолярний рак (БАР), також відомий як рак вистилаючих тканин легень, являє собою форму неоплазії, що зачіпає поверхню бронхів і альвеол, яку можна лікувати шляхом місцевої терапії за допомогою аерозольної доставки (Anami Y., et al., J. Thorac. Oncol., 2009, 4, 8, 951).

Як зазначено вище, було встановлено, що окислений авідин здатний ефективно досягати і зв'язуватися з тканинами легенів шляхом аерозольного введення. Даний результат не припускався, виходячи з даних міжнародної заявки на патент WO2009016031, і подальші дослідження показали, що для зв'язування окисленого авідину з тканинами потрібна ін'єкція всередину тканини. Фактично, осадження окисленого авідину на неушкоджені тканини шкіри або очей недостатньо для зв'язування (Фігура 1). Також на сечовому міхурі свиней було підтверджено, що зв'язування окисленого авідину відбувається тільки з білками тканини, яка була піддана хірургічному втручанню (Фігура 2). Крім того, було встановлено, що розпилений окислений авідин зв'язується з легенями, але не зв'язується з трахеєю, що вказує на специфічний і непередбачуваний характер зв'язування в даному органі (Таблиця 1).

Терміни "AvidinOX", "AvidinOX®" і "OXaviditi_{НАВА}" відносяться до хімічно окисленого авідину відповідно до прикладу 1 в WO2009016031. Вираз "окислений авідин" відноситься до хімічно

окисленого авідину, як визначено в міжнародній заявці на патент WO2009016031 (тобто, до окисленого авідину, в якому щонайменше один залишок манози на молекулу авідину замінений на залишок наступної формули



де зазначений окислений авідин містить приблизно від 8 до 15 альдегідних фрагментів і має термічну стабільність не менше 78 °С. Альтернативно, вираз "окислений авідин" також відноситься до сполуки, яку отримують шляхом окислення авідину за наявності ліганду НАВА для запобігання окислення залишків триптофану, які беруть участь у зв'язуванні біотину.

Вираз "протираковий засіб" відноситься до засобу, який здатний протистояти розвитку пухлин. Неповний список протиракових засобів складається з хіміотерапевтичних лікарських засобів, моноклональних антитіл, радіоактивно мічених сполук, ефекторних клітин, токсинів, цитокінів, вірусних та плазмідних векторів, інгібіторів РНК і протиракових клітин.

Терміни "аерозоль", "аерозольований", "що інгалюється" і "розпилений" відносяться до одного і того самого способу утворення невеликих крапель аерозолі з медичних розчинів/суспензій для того, щоб їх можна було безпосередньо та ефективно інгалювати через ротову порожнину.

Вирази "для кондиціонування легень", "агент для кондиціонування легень" і "попередньо підготовлені легень" відносяться до способу забезпечення взаємодії клітин легень з біотинильованими терапевтичними засобами шляхом взаємодії через окислений авідин, який інгалюють заздалегідь.

Зокрема, вираз "для по суті повного кондиціонування легень" позначає, що після введення окислений авідин виявляється щонайменше в 95 % легень.

Таким чином, задачею даного винаходу є фармацевтична композиція для інгаляції, що містить:

а) окислений авідин за п. 1 або 2,
б) стерильний буферний розчин з кислим рН, де зазначений буфер переважно являє собою ацетат натрію, і, можливо,

с) неіоногенний агент, вибраний з групи, що включає маніт, гліцерин, глюкозу, лактозу, трегалозу, сахарозу, пропіленгліколь, сорбіт, ксиліт, поліетиленгліколь, етанол та ізопропанол;

при цьому зазначену фармацевтичну композицію доставляють шляхом інгаляції після розпилення.

У переважному варіанті реалізації "кислий рН" означає, що рН становить від 5,0 до 6,9.

У більш переважному варіанті реалізації "кислий рН" означає, що рН становить від 5,0 до 6,0.

У найбільш переважному варіанті реалізації "кислий рН" означає, що рН становить від 5,0 до 5,5.

В іншому варіанті реалізації фармацевтична композиція для інгаляції є ліофілізованою.

У переважному варіанті реалізації окислений авідин підходить для застосування як агент для кондиціонування легень шляхом інгаляції.

У більш переважному варіанті реалізації окислений авідин підходить для застосування для по суті повного кондиціонування легень шляхом інгаляції.

В іншому варіанті реалізації за доставкою окисленого авідину слідє введення терапевтичного засобу, де зазначений терапевтичний засіб є біотинильованим.

У переважному варіанті реалізації фармацевтична композиція для інгаляції відповідно до даного винаходу підходить для лікування таких захворювань: туберкульозу, хронічної обструктивної хвороби легень (ХОХЛ), раку легень в цілому і бронхіолоальвеолярного раку (БАР) зокрема, астми, альвеоліту легень, запальних захворювань легень, муковісцидозу та дефіциту альфа-1-антитрипсину.

В іншому переважному варіанті реалізації фармацевтична композиція для інгаляції відповідно до даного винаходу підходить для лікування первинного раку легень в множинній або метастатичній формах.

В іншому переважному варіанті реалізації біотинильований терапевтичний засіб являє собою біотинильований адукт протиракового засобу.

В іншому переважному варіанті реалізації біотинильований протираковий засіб являє собою біотинильований адукт добре відомих протиракових лікарських засобів, вибраних з групи, що включає моноклональні антитіла до EGFR, до KEA (карциноємбріонального антигену), до MUC1 (муцину 1), до EpCAM, до cMET, до CTL4, ФНП, TRAIL, Tweak, гама-інтерферон, Г-КСФ, ГМ-КСФ, ІЛ-2, ІЛ-12 або хіміотерапевтичні лікарські засоби.

В іншому переважному варіанті реалізації зазначений протираковий засіб являє собою радіоактивне похідне, вибране з групи, яка включає мічений біотин-DOTA (ST2210). Останній описаний в міжнародній заявці на патент WO2002066075.

В іншому переважному варіанті реалізації радіоізоотоп, який використовується для отримання міченого біотин-DOTA, вибраний з групи, що включає ^{52}Fe , $^{52\text{m}}\text{Mn}$, ^{55}Co , ^{64}Cu , ^{67}Cu , ^{67}Ga , ^{68}Ga , $^{99\text{m}}\text{Tc}$, ^{111}In , ^{123}I , ^{125}I , ^{131}I , ^{32}P , ^{47}Sc , ^{90}Y , ^{109}Pd , ^{109}Ag , ^{149}Pm , ^{186}Re , ^{188}Re , ^{211}At , ^{212}Pb , ^{212}Bi і ^{177}Lu .

В іншому більш переважному варіанті реалізації зазначений протираковий засіб являє собою біотинильований адукт добре відомих протиракових лікарських засобів, вибраних з групи, що включає вірусні та плазмідні вектори, інгібітори РНК і протиракові клітини.

В іншому переважному варіанті реалізації біотинильований засіб являє собою засіб, що підходить для лікування запальних захворювань легенів, і біотинильований адукт добре відомих протизапальних лікарських засобів, вибраних з групи, що включає моноклональні антитіла до ФНП, до Tweak, до ІЛ-17, до ІЛ-23, до ІЛ-6, до ІЛ-1, ІЛ-10 або хемокіни.

В іншому переважному варіанті реалізації у разі генетичних захворювань легенів терапевтичний засіб являє собою біотинильований адукт відомого неповноцінного білка, наприклад, CFTCR, і альфа-1-антитрипсину при муковісцидозі.

Інший переважний варіант реалізації являє собою набір, що містить фармацевтичну композицію для інгаляції, описану вище в даній заявці, де композиція є ліофілізованою або розчинена в стерильному буферному розчині.

В іншому більш переважному варіанті реалізації зазначений набір містить фармацевтичну композицію для інгаляції, описану вище в даній заявці, і розпилювач.

Кількість окисненого авідину, яка потрібна для досягнення терапевтичного ефекту, змінюється залежно від пацієнта, який отримує лікування, і конкретного розладу або захворювання, що піддається лікуванню. Також вона залежить від ефективності використовуваного розпилювача та осадження крапель аерозолі в легенях. Концентрації окисненого авідину, які підходять, в розчині для розпилення знаходяться в діапазоні від 0,005 % до 0,5 (мас/об.) (тобто, від 0,05 мг/мл до 5 мг/мл).

Для регулювання осмоляльності розчину для розпилення можна використовувати неіоногенний агент. Приклади неіоногенних агентів для регулювання осмоляльності, які можна використовувати в даному винаході, обрані з групи, що включає маніт, гліцерин, глюкозу, лактозу, трегалозу, сахарозу, пропіленгліколь, сорбіт, ксиліт, поліетиленгліколь, етанол та ізопропанол.

Крім неіоногенного агента, описаного вище в даній заявці, композиція відповідно до даного винаходу може містити одну або більше додаткових підходящих допоміжних речовин. Допоміжні речовини, які підходять, включають агенти для зміни рН розчину та можливо консерванти.

Склад відповідно до даного винаходу можна розміщувати в підходящих ємностях, таких як ампули з кількома дозами або, переважно, ампули, що містять одну дозу, для разового введення. Розчин для розпилення відповідно до даного винаходу можна отримувати таким чином: окислений авідин з першої ампули можна розчиняти шляхом додавання стерильного розчину ацетату натрію при рН 5,5, що міститься в другій ампулі.

Склади відповідно до даного винаходу призначені для введення шляхом розпилення за допомогою відповідного обладнання, яке здатне отримувати дуже дрібні краплі рідини для інгаляції в легені. Підходящим обладнанням є, наприклад, струменеві або ультразвукові розпилювачі.

ОПИС КРЕСЛЕНЬ

Фігура 1:

На Фігурі 1 наведено утримування комплексу окислений авідин/ ^{111}In -8T2210 в тканинах очей (нанесення у вигляді крапель), язика (в/м ін'єкція), кінцівок (в/м ін'єкція), шкіри тіла (нанесення у вигляді крапель), шкіри голови (нанесення у вигляді крапель).

Фігура 2:

На Фігурі 2 наведений зв'язок ^{68}Ga -ST2210, введенного внутрішньовенно, з хірургічним втручанням, здійсненим в сечовому міхурі свині, для імітації видалення поверхневої карциноми сечового міхура людини (стрілка). Зображення було отримане через 4 години після ін'єкції ^{68}Ga -ST2210 за допомогою позитронно-емісійної томографії (ПЕТ).

Фігура 3:

На Фігурі 3 показана хімічна цілісність окисленого авідину протягом 1 години після розпилення в 100 мМ розчині ацетату натрію при pH 5,5 і без допоміжної речовини.

Фігура 4:

5 На Фігурі 4 наведений розподіл ^{111}In -ST2210, введеного внутрішньовенно, при $T = 2$ год і $T = 24$ години в різних органах миші, якій робили ін'єкцію за 24 години до інгаляції окисленого авідину або носія.

Фігура 5:

10 Імунохімія протиавідинових антитіл в зрізах легенів у мишей через 24 години після впливу аерозолі окисленого авідину.

Фігура 6:

Знімки ПЕТ ^{64}Cu -ST2210, введеного внутрішньовенно мишам, які піддавалися впливу аерозолі окисленого авідину 24 годинами раніше.

Фігура 7:

15 Клітини EGFR + A431, інкубовані з біотинильованим цетуксимабом в дозах 5 мкг, 0,05 мкг, 0,05 нг і 0,05 пг/мл протягом 1 години в ФСБ (фосфатно -сольовому буфері) без (а) попередньої обробки або з (б) попередньою обробкою окисленим авідіном.

Фігура 8:

20 На Фігурі 8 показане інгібування проліферації A431 клітинної лінії з біотинильованим цетуксимабом з попередньою обробкою і без попередньої обробки окисленим авідіном.

Фігура 9:

25 На Фігурі 9 наведений цитофлуорометричний аналіз індукції апоптозу біотинильованим цетуксимабом для двох клітинних ліній, одна з яких мала високий рівень експресії EGFR (тобто, A431), а друга не експресувала EGFR (тобто, SKMel28), з обробкою і без обробки окисленим авідіном.

Фігура 10:

30 На Фігурі 10 показане інгібування проліферації, викликане біотинильованим цетуксимабом, з попередньою обробкою і без попередньої обробки AvidinOX для клітин A431, A549 (тобто, клітини карциноми легенів, що мають низький рівень експресії EGFR з мутацією KRAS) і SKMel28.

ПРИКЛАДИ

Приклад 1

35 Зазначені ділянки Balb/c мишей масою приблизно 20 г обробляли розчином авідину або окисленого авідину, отриманого відповідно до процедури, описаної в прикладі 1 міжнародної заявки на патент WO2009016031 (3,0 мг/мл розчиняли в 100 мМ розчині ацетату натрію, pH 5,5), що попередньо утворив комплекс з ^{111}In -ST2210. Через двадцять чотири години після ін'єкції/нанесення мишей умертвляли за допомогою асфіксії, викликаній надлишком CO_2 , і оброблені ділянки аналізували за допомогою гама лічильника. Дані представлені на Фігурі 1 і виражені у вигляді % введеної дози/100 мг тканини (% ВД/100 мг). Результати показують вміст 40 більш статистично значимої кількості комплексу окислений авідин/ ^{111}In -ST2210 в тканинах язика, м'язів кінцівок і місцево обробленої шкіри голови в порівнянні з комплексом авідин/ ^{111}In -ST2210. Тим не менш, нанесення комплексу окислений авідин/ ^{111}In -ST2210 або авідин/ ^{111}In -ST2210 на нормальну шкіру або в очі не призводило до аналогічних результатів, вказуючи на те, що 45 комплекс не зв'язується з зовнішніми поверхнями тканин і, отже, для забезпечення зв'язувальних властивостей окисленого авідину, що вводиться індивідуально або у вигляді комплексу з біотинильованим агентом, потрібна хірургічна операція.

Приклад 2

50 Анестезованих самок свиней 40 кг піддавали хірургічній операції для нанесення двох 2 см поверхневих пошкоджень на стінках сечового міхура. Потім через катетер закапували 30 мл розчину окисленого авідину (3,0 мг/мл розчиняли в 100 мМ розчині ацетату натрію, pH 5,5) і залишали реагувати на 1 годину. Потім сечовий міхур промивали сольовим розчином і внутрішньовенно вводили 0,5 мкг ^{68}Ga -ST2210. Через 4 години свиней піддавали процедурі ПЕТ. Результати, наведені на Фігурі 2, показують, що тільки ділянка, піддана хірургічному 55 втручанню (тобто, ділянка з 2 мм пошкодженням), здатна зв'язувати окислений авідин, в той час як неушкоджена тканина сечового міхура виявилася абсолютно інертною до альдегідних фрагментів окисленого авідину. Тим не менше, ці дивовижні дані відповідають результатам з прикладу 1, в якому нехірургічно пошкоджені тканини виявилися інертними до окисленого авідину.

Приклад 3

100 мМ розчин ацетату натрію з рН 5,5, що містить окислений авідин у концентрації 3,0 мг/мл, розпиляли за допомогою Nose-Only inExpose System (Scireq-EMKA technologies) протягом 1 години при кімнатній температурі. Розмір частинок в розчині білка становив 5 мкм. Розпилений розчин доставали з пробірки Falcon і аналізували за допомогою ВЕРХ. Дані на

5 Фігурі 3 являють собою аналогічні профілі елюції для розчину окисленого авідину до і після розпилення, що свідчить про ідеальну стабільність білка. Даний результат не був гарантований, оскільки багато білків і нуклеїнових кислот потребують широких досліджень для визначення умов, що дозволяють зберегти цілісність і ефективність таких лікарських засобів у процесі розпилення (Geller D.E., et al., J. Aerosol hied. Pulm. Drug Deliv., 2010, 23 Suppl 1, S55; Markovic S.N., et al., Am. J. Clin. Oncol, 2008, 31, 6, 573; Choi W.S., et al., Proc. Natl. Acad. Sci., 98, 20, 11103).

Цікаво відзначити, що попри те, що похідні альдегідів є досить сприйнятливими до гідратації за наявності води, подібний процес не спостерігався при розпиленні окисленого авідину. Фактично, було встановлено, що кількість альдегідних фрагментів на молекулу, визначена за

15 допомогою способу Purpald (Quesenberry M.S., et al, Anal. Biochem., 1996, 234,1, 50), була по суті однаковою (з урахуванням мінливості при дослідженні) до і після розпилення при рН 5,0 і рН 5,5 за наявності та за відсутністю маніту як допоміжної речовини, як показано в даних Таблиці 1.

Таблиця 1

Партія окисленого авідину	Кількість СНО фрагментів на молекулу	
	До розпилення	Після розпилення
Склад з манітом з рН 5,0	19,7	19,2
Склад з манітом з рН 5,5	17,1	19,4
Склад з ацетатним буфером з рН 5,5	16,4	16,7

Приклад 4

Біологічну активність і біорозподіл розпиленого окисленого авідину для щурів оцінювали шляхом вимірювання поглинання в легенях і нецільових органах 5 мкг міченого ¹¹¹Індієм біотин-DOТА (тобто, ¹¹¹In-ST2210), введеного внутрішньовенно через 24 години після інгаляції

25 окисленого авідину, авідину (3,0 мг/мл розчин, 0,8 мл/хв., розпилення протягом 1 години) або носія.

Двадцять щурів Спрага-Доулі ділили на три групи. Кожна з груп отримувала таке лікування:

першу групу (що складається з 4 щурів) піддавали розпиленню тільки носія (тобто, 100 мМ розчину ацетату натрію з рН 5,5) і через 24 години щурам внутрішньовенно вводили 5 мкг ¹¹¹In-ST2210 в 0,5 мл сольового розчину;

30 другу групу (що складається з 8 щурів) піддавали розпиленню авідину (приблизно 10 мг/кг) в 100 мМ розчину ацетату натрію з рН 5,5 і через 24 години щурам внутрішньовенно вводили 5 мкг ¹¹¹In-ST2210 в 0,5 мл сольового розчину;

третю групу (що складається з 8 щурів) піддавали розпиленню окисленого авідину (приблизно 10 мг/кг) в 100 мМ розчину ацетату натрію з рН 5,5 і через 24 години щурам

35 внутрішньовенно вводили 5 мкг ¹¹¹In-ST2210 в 0,5 мл сольового розчину.

Всіх щурів умертвляли через 2 години після внутрішньовенного введення ¹¹¹In-ST2210, а потім зразки крові, селезінки, нирок, печінки, шлунку, мозку, трахеї та тканин різних ділянок легенів відбирали, зважували та досліджували за допомогою гама-лічильника (Perkin Elmer).

Дані виражали в вигляді % введеної дози/грам тканини (% ВД/г).

40 Як видно з Таблиці 2, інгаляція окисленого авідину дозволяє статистично значущим чином збільшувати концентрацію ¹¹¹In-ST2210 в легенях, в той час як в інших органах не спостерігалось статистично значущих розбіжностей у концентраціях ¹¹¹In-ST2210 в порівнянні з групами, які отримують авідин або тільки носій.

Таблиця 2

Група	¹¹¹ In-ST2210 %Bfl/r		
	Тільки носій	Авідин	Окислений авідин
Кров	0,011±0,005	0,009±0,005	0,012±0,004
Селезінка	0,105±0,159	0,027±0,003	0,032±0,002
Нирки	0,426±0,082	0,378±0,048	0,414±0,033
Печінка	0,046±0,009	0,041±0,007	0,051±0,005
Шлунок	0,031±0,011	0,067±0,085	0,276±0,246
Мозок	0,002±0,001	0,002±0,000	0,002±0,000
Трахея	0,021±0,007	0,022±0,008	0,029±0,007
Легені	0,024±0,004	0,023±0,006	0,054±0,009***
Легені sn	0,024±0,004	0,023±0,006	0,053±0,008***
Легені dx (хвостова доля)	0,024±0,004	0,022±0,006	0,055±0,009***
Легені dx (краніальна, середня та додаткова долі)	0,025±0,004	0,023±0,005	0,055±0,011***

*** P < 0,001 однофакторний Anova відносно авідину

Приклад 5

- 3 метою визначення селективності та стабільності поглинання ¹¹¹In-ST2210 в легенях проводили дослідження біорозподілу. Balb/c мишей масою приблизно 20 г (5 мишей на групу) піддавали розпиленню (тобто, за допомогою Nose-Only inExpose System-Scireq-EMKA technologies) окисленого авідину (3 мг/мл розчин) або тільки носія (3 мл) протягом 1 години; тривалість в 1 годину відповідає дозі приблизно 90 мг/кг. Через двадцять чотири години всім мишам внутрішньовенно вводили ¹¹¹In-ST2210 (тобто, 1 мкг в 0,2 мл сольового розчину) і після додаткових 2 або 24 годин мишей умертвляли за допомогою асфіксії, викликаній надлишком CO₂. Легені та нецільові органи відбирали, зважували та досліджували за допомогою гамалічильника. Дані виражали в вигляді % введеної дози/грам тканини.

Результати, наведені на Фігурі 4, демонструють специфічне та значне поглинання ¹¹¹In-ST2210 тільки в легенях, які були попередньо оброблені окисленим авідином.

Приклад 6

- Balb/c мишей масою приблизно 20 г піддавали розпиленню окисленого авідину відповідно до процедури, описаної в прикладі 3, і через 24 години умертвляли за допомогою асфіксії. Легені видаляли та фіксували формальдегідом і заливали парафіном. Серійні зрізи, отримані за допомогою мікротому, обробляли та інкубували з кролячим антиавідиновим антитілом, кон'югованим з HRP (GeneTex, USA), а потім з субстратом DAB.

На Фігурі 5 показана наявність окисленого авідину на бронхоепітеліальному рівні аж до кінцевих бронхіол. Було встановлено, що даний розподіл є однорідним у всіх відділах легенів.

Приклад 7

- Balb/c мишей масою приблизно 20 г піддавали розпиленню окисленого авідину або тільки носія відповідно до процедури, описаної в прикладі 5. Через 24 години мишам внутрішньовенно вводили 1 мкг ⁶⁴Cu-ST2210. Через 4 години досліджували розподіл ⁶⁴Cu-ST2210 за допомогою знімків ПЕТ. На Фігурі 6 показано наявність радіоактивного сигналу в легенях миші, попередньо оброблених розпиленням окисленим авідином, і відсутність сигналу в легенях мишей, які отримували тільки носій. Для обох груп мишей спостерігаються сигнали в нирках і сечовому міхурі. Дане спостереження узгоджується з процесом фізіологічного виведення ST2210 до даного моменту часу. Також для обох груп мишей спостерігається радіоактивний сигнал в одній кінцівці, оскільки їм попередньо одночасно з аерозолем внутрішньом'язово вводили окислений авідин для забезпечення внутрішнього позитивного контролю в експерименті.

Приклад 8

- EGFR⁺ клітини A431 плоскоклітинного раку інкубували ФСБ протягом 1 години з 1 мл моноклональних біотинильованих антитіл до EGFR (тобто, біотинильованого цетуксимабу) в діапазоні доз від 0,05 пг/мл до 5 мкг/мл. В одному з експериментів клітини попередньо інкубували з окисленим авідином, в той час як у першому експерименті клітини обробляли тільки біотинильованим цетуксимабом.

- Після промивання зв'язування біотинильованого цетуксимабу визначали за допомогою цитофлуориметрії після інкубації з мишачими антитілами для людини, кон'югованими з фікоеритрином (ФЕ). Відповідно до Фігури 7 за наявності окисленого авідину зв'язування

біотинильованого цетуксимабу в малих дозах, таких як 0,05 нг і 0,05 пг/мл, з клітинами A431 залишається помітним.

Приклад 9

Дані, представлені на Фігурі 8, демонструють, що протипроліферативна активність біотинильованого цетуксимабу (експеримент проводили, як описано в прикладі 8) зростає щонайменше в 3 рази через його іммобілізацію за рахунок зв'язування з мембранозв'язаним окисленим авідіном навіть при таких малих дозах, як 0,05 нг і 0,05 пг/мл. Інгибування проліферації вимірювали за допомогою дослідження Cell Titer Glow, Promega. Дані виражали у вигляді % інгибування проліферації клітин за відсутності окисленого авідину (тобто, білі стовпці) або за його наявності (тобто, чорні стовпці). Крім того, як повідомлялося раніше (Petronzelli F., et al., Basic Clin. Pharmacol. Toxicol., 2011, 233) окислений авідин не впливає на проліферацію клітин, що спостерігалось в порівняльному експерименті за участю лише середовища (дані не наведено).

Приклад 10

Індукцію апоптозу біотинильованим цетуксимабом з попередньою обробкою або без попередньої обробки AvidinOX досліджували на EGFR⁺ клітинах A431 (клітини вульварної плоскоклітинної карциноми, що мають високий рівень експресії EGFR з KRAS дикого типу) і EGFR⁻ клітинах SKMel28 (що не експресують EGFR). Клітини інкубували

протягом 15 хвилин з біотинильованим цетуксимабом (б-цетуксимаб) з попередньою обробкою або без попередньої обробки AvidinOX. Після промивання клітини інкубували в повному середовищі протягом 18 годин. Позитивні за анексином V клітини досліджували за допомогою цитофлуориметрії з використанням приладу I для визначення апоптозу клітин анексину V-ФІТЦ (флуоресцеїнізотіоціанат) (BD Pharmingen). Дані з Фігури 9 показують, що проапоптозний ефект біотинильованого цетуксимабу зростає щонайменше в 3 рази, у випадку зв'язування AvidinOX з мембраною EGFR⁺ клітин, але не у випадку EGFR⁻ клітин, що вказує на специфічність проапоптозної активності біотинильованого цетуксимабу, прив'язаного за допомогою AvidinOX.

Приклад 11

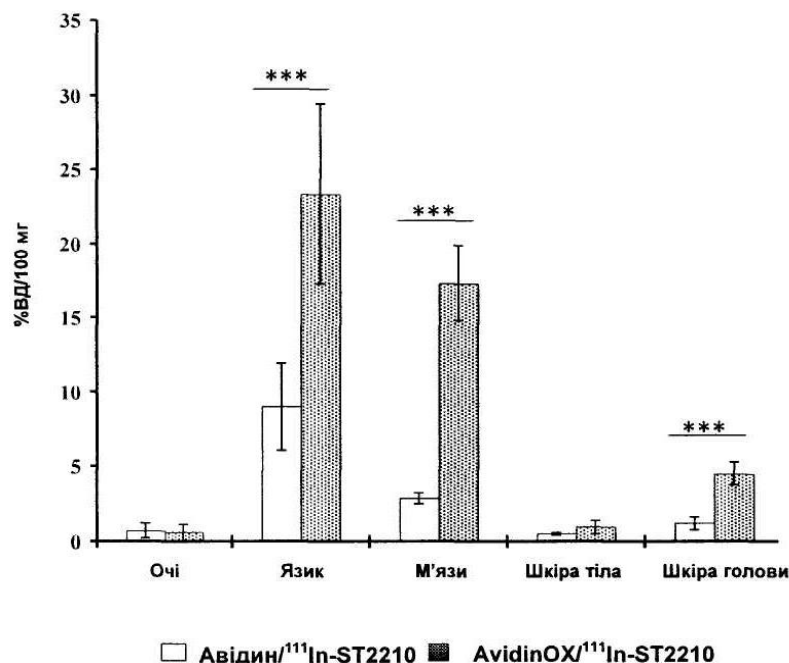
Інгибування проліферації біотинильованим цетуксимабом з попередньою обробкою або без попередньої обробки AvidinOX досліджували на клітинах A431, A549 (тобто, клітини карциноми легень, що мають низький рівень експресії EGFR з мутацією K.RAS) і SKMel28. Для дослідження впливу прив'язаного біотинильованого цетуксимабу на проліферацію клітин 5×10^5 клітин A431, A549 і SKMel28, з попередньою інкубацією і без попередньої інкубації з AvidinOX, висівали в 96-лункові титраційні планшети (2×10^3 клітин на лунку) в середовищі DMEM (модифікованого за способом Дульбеко середовища Ігла), що містить 10 % ETC (ембріональної телячої сироватки). Після адгезії тричі додавали 100 мкл біотинильованого цетуксимабу в діапазоні від 0,05 пг/мл до 5 мкг/мл в середовищі DMEM, що містить 1 % ETC. Через 15 хвилин клітини промивали і культивували протягом 48 годин в середовищі DMEM, що містить 1 % ETC. Життєздатність клітин визначали за допомогою дослідження CellTiter-Glow® (Promega). Дані з Фігури 10 показують, що біотинильований цетуксимаб здатний інгибувати проліферацію клітин, що мають високий рівень експресії EGFR (тобто, A431-клітини вульварної карциноми) і мають низький рівень експресії EGFR (тобто, мутація KRAS, A549-клітини аденокарциноми легені у людини), але не інгибує проліферацію EGFR-клітин (SKMel28). Дивовижно, але даний вплив значно поліпшується при зв'язуванні біотинильованого цетуксимабу за допомогою AvidinOX з поверхнею таких EGFR⁺ клітин.

ФОРМУЛА ВИНАХОДУ

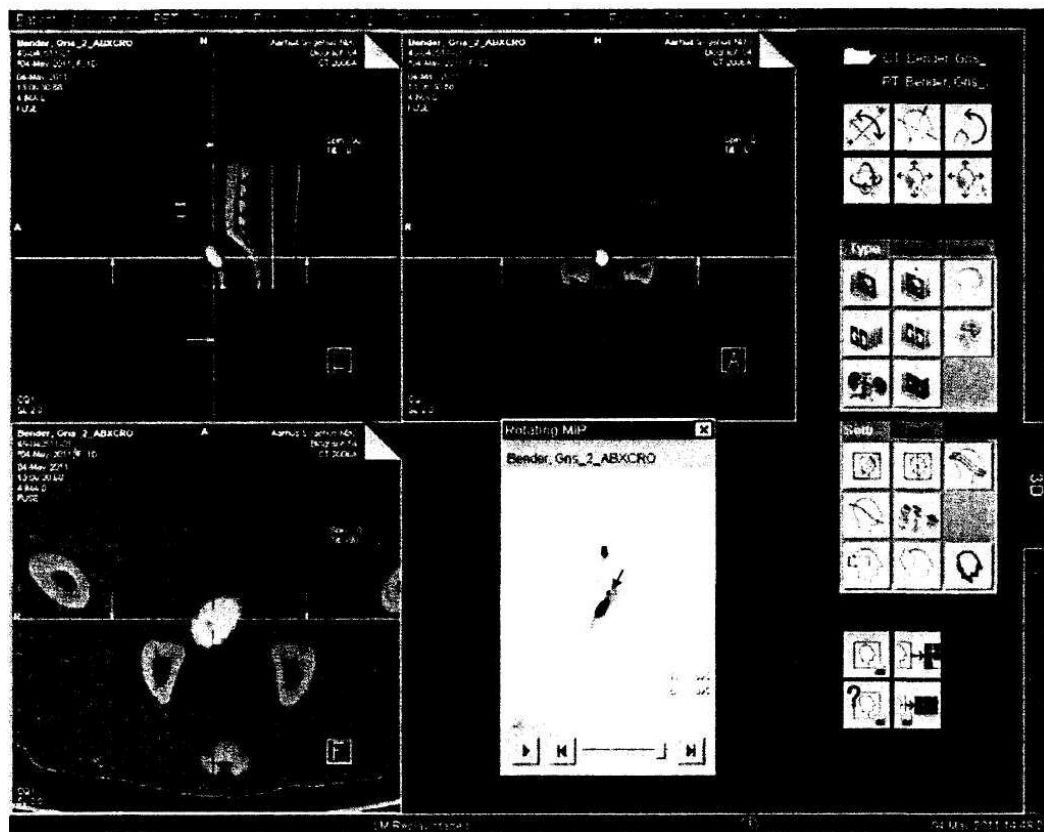
1. Застосування окисленого авідину як агента для кондиціонування легенів шляхом інгаляції.
2. Застосування за п. 1 для повного кондиціонування легенів.
3. Застосування за п. 1 або 2, яке **відрізняється** тим, що за стадією інгаляції іде введення біотинильованого терапевтичного засобу.
4. Застосування за п. 3, яке **відрізняється** тим, що біотинильований терапевтичний засіб вибрано з групи, що складається з радіоактивного агента, моноклональних антитіл, цитокінів, хемокінів, ферментів, хіміотерапевтичних лікарських засобів, вірусних або плазмідних векторів і клітин.
5. Застосування за п. 4, яке **відрізняється** тим, що моноклональне антитіло являє собою біотинильоване похідне моноклонального антитіла, вибране з групи, що складається з моноклональних антитіл до EGFR, до KEA, до MUC1, до EpCAM, до cMET, до CTL4, до ФНП, до Tweak, до ІЛ-17, до ІЛ-23, до ІЛ-6, до ІЛ-1.

6. Застосування за п. 4, яке **відрізняється** тим, що біотинільований цитокін являє собою біотинільований аддукт цитокіну, вибраного з групи, що складається з ФНП, Tweak, TRAIL, гамма-інтерферону, Г-КСФ, ГМ-КСФ, ІЛ-2, ІЛ-12.
7. Застосування за п. 4, яке **відрізняється** тим, що біотинільований хемокін являє собою біотинільований аддукт хемокіну, вибраного з групи, що складається з хемокінів сімейств СХС і СС.
8. Застосування за п. 4, яке **відрізняється** тим, що біотинільований фермент являє собою білок-регулятор трансмембранної провідності при муковісцидозі.
9. Застосування за п. 4, яке **відрізняється** тим, що біотинільований радіоактивний агент являє собою біотин-DOTA, мічений радіоізотопом, вибраним з групи, що включає ^{52}Fe , $^{52\text{m}}\text{Mn}$, ^{55}Co , ^{64}Cu , ^{67}Cu , ^{67}Ga , ^{68}Ga , $^{99\text{m}}\text{Tc}$, ^{111}In , ^{123}I , ^{125}I , ^{131}I , ^{32}P , ^{47}Sc , ^{90}Y , ^{109}Pd , ^{111}Ag , ^{149}Pm , ^{186}Re , ^{188}Re , ^{211}At , ^{212}Pb , ^{212}Bi та ^{177}Lu .
10. Фармацевтична композиція для інгаляції, яка містить:
- а) окислений авідин за п. 1 або 2,
 - б) стерильний буферний розчин з кислим рН, де зазначений буфер являє собою ацетат натрію.
11. Фармацевтична композиція для інгаляції за п. 10, яка додатково містить неіоногенний агент, вибраний з групи, що включає маніт, гліцерин, глюкозу, лактозу, трегалозу, сахарозу, пропіленгліколь, сорбіт, ксиліт, поліетиленгліколь, етанол і ізопропанол.
12. Ліофілізована фармацевтична композиція для інгаляції яка містить:
- а) окислений авідин за п. 1 або 2,
 - б) стерильний буферний розчин з кислим рН, де зазначений буфер являє собою ацетат натрію.
13. Набір, який містить фармацевтичну композицію для інгаляції за будь-яким з пп. 10-12 і розпилювач.
14. Застосування фармацевтичної композиції для інгаляції за будь-яким з пп. 10-12 для лікування легеневих ракових захворювань, легеневих запальних захворювань, вибраних з групи, що включає ХОХЛ, астму, альвеоліт легень, муковісцидоз і дефіцит альфа-1-антитрипсину.

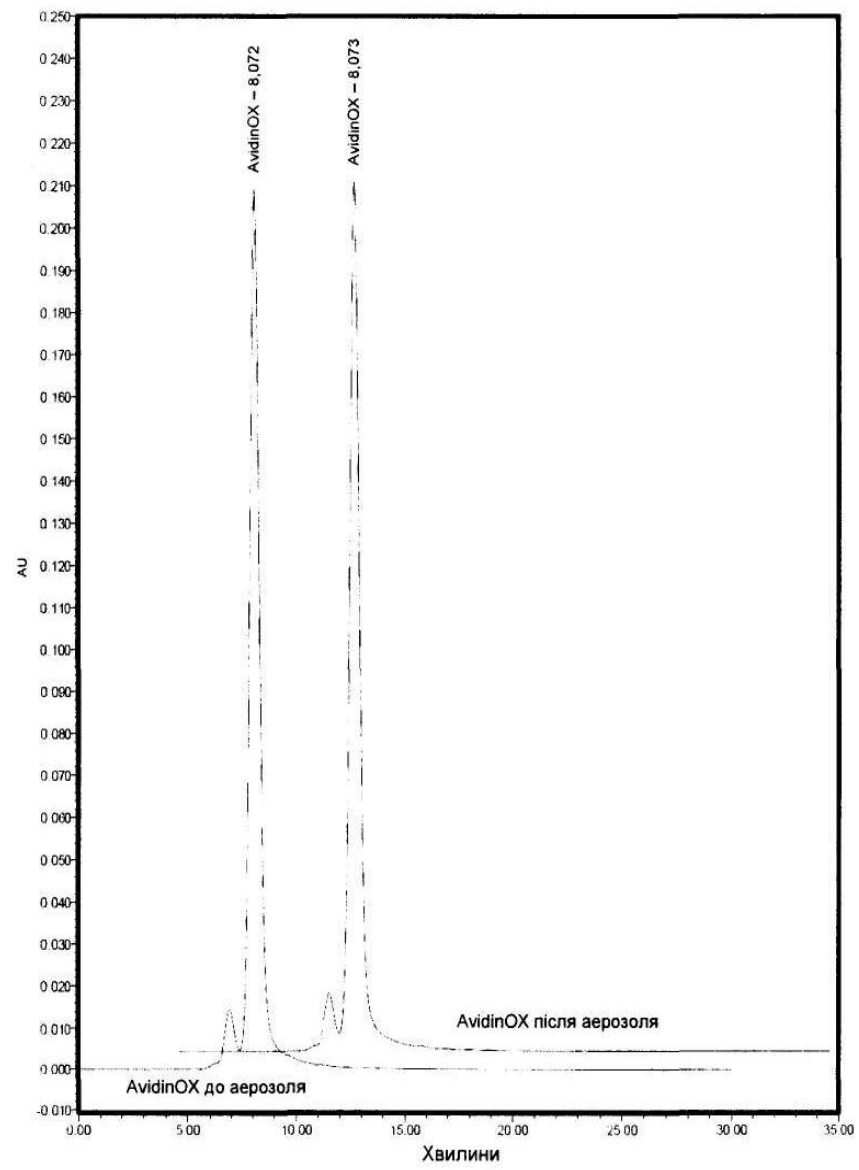
Фігура 1



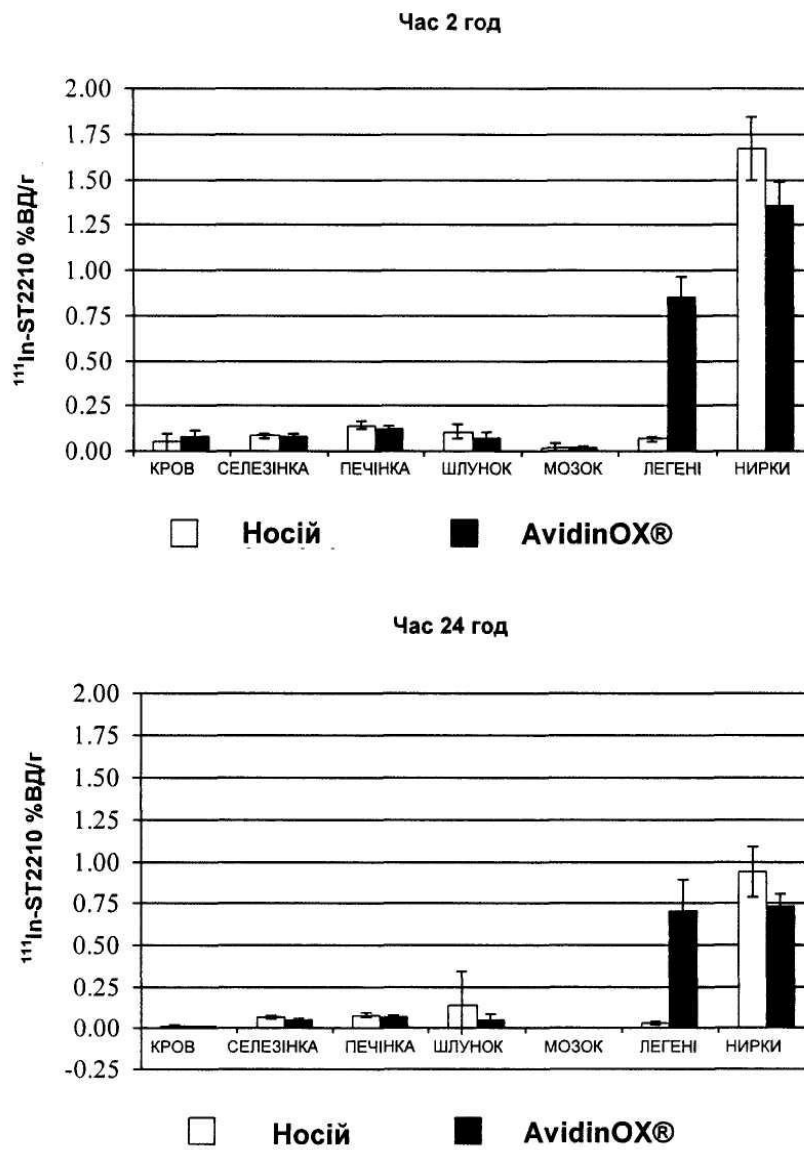
Φirypa 2



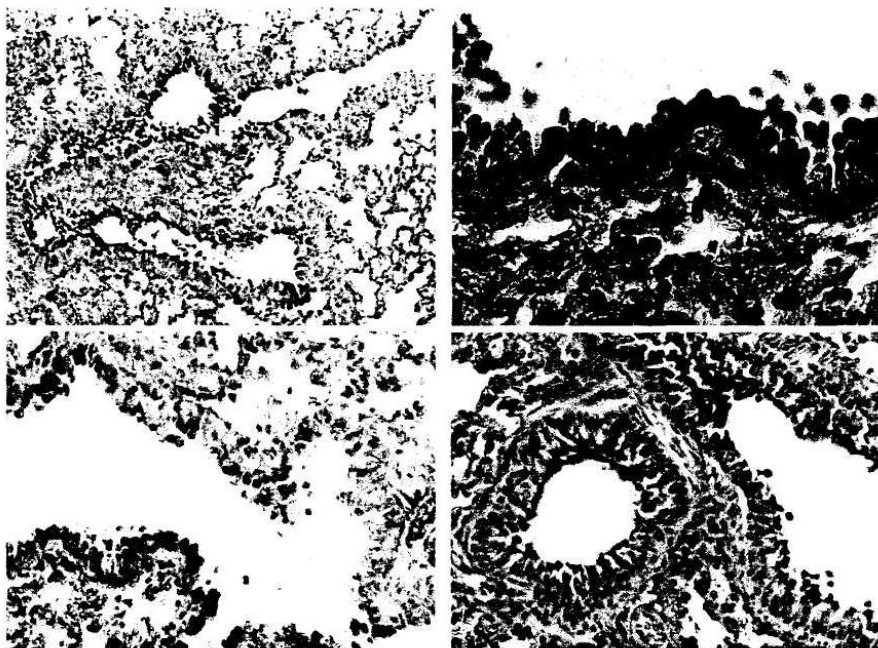
Фігура 3



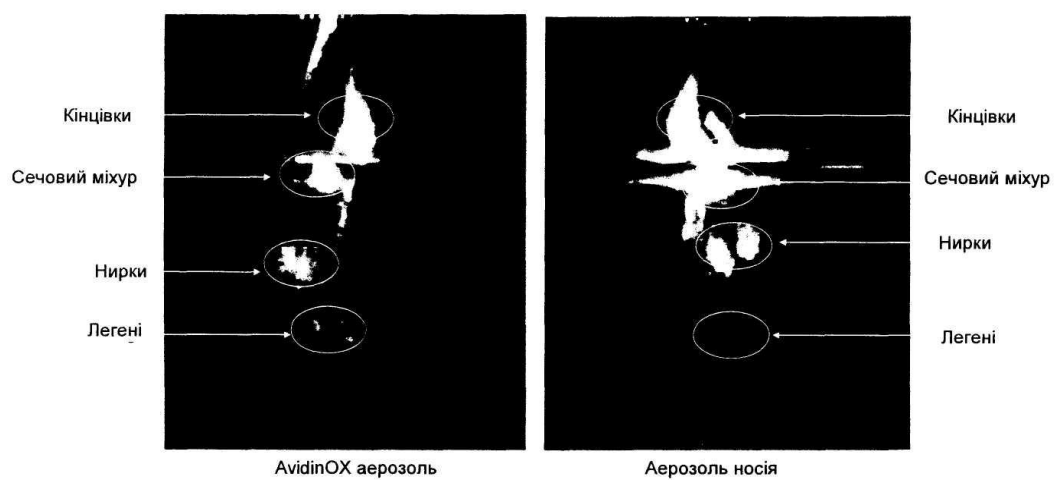
Фігура 4



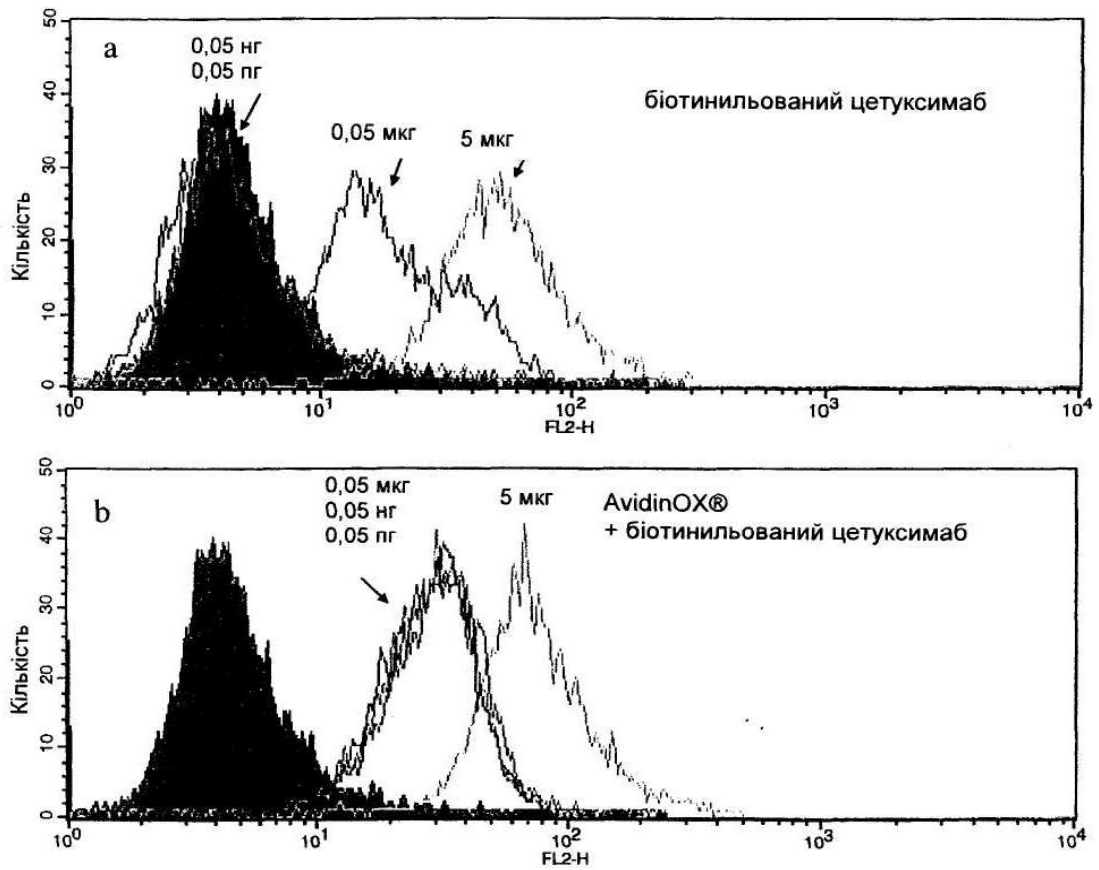
Фігура 5



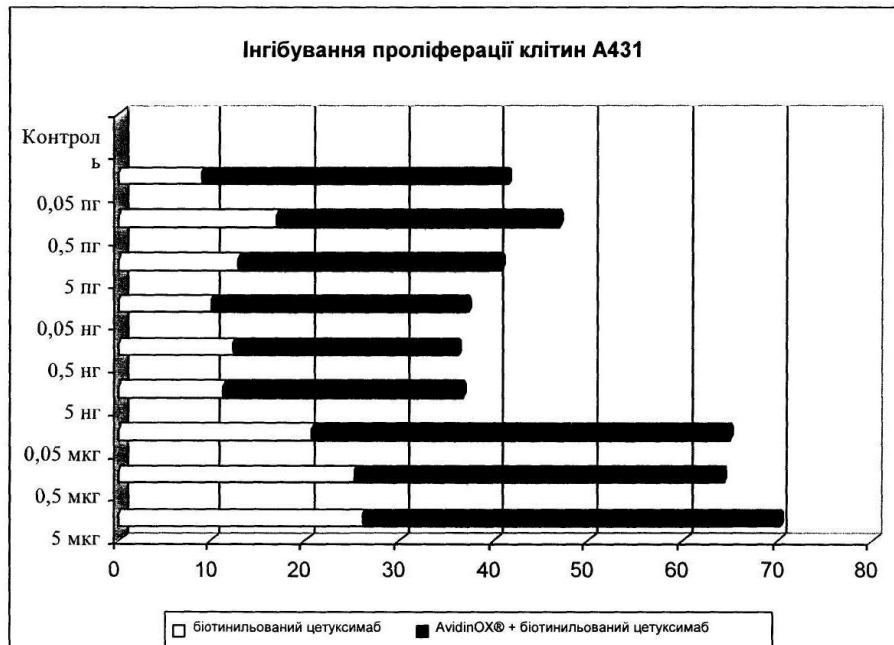
Фігура 6



Фігура 7



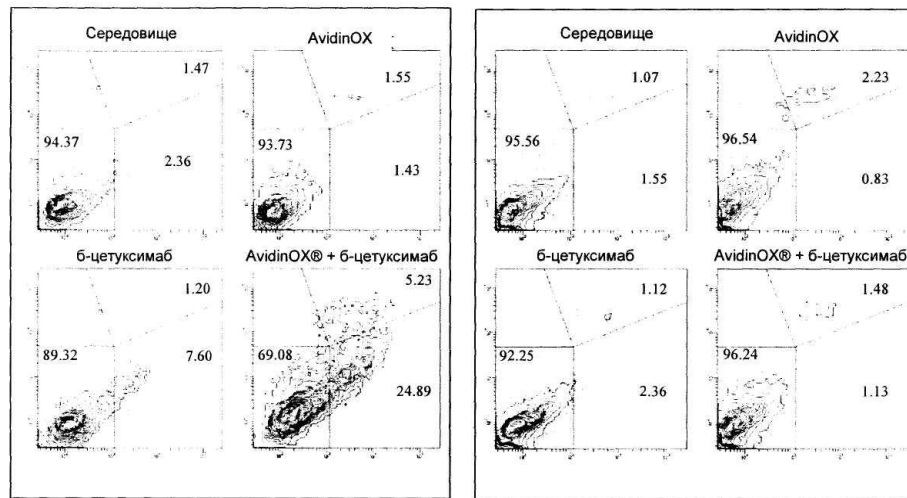
Фігура 8



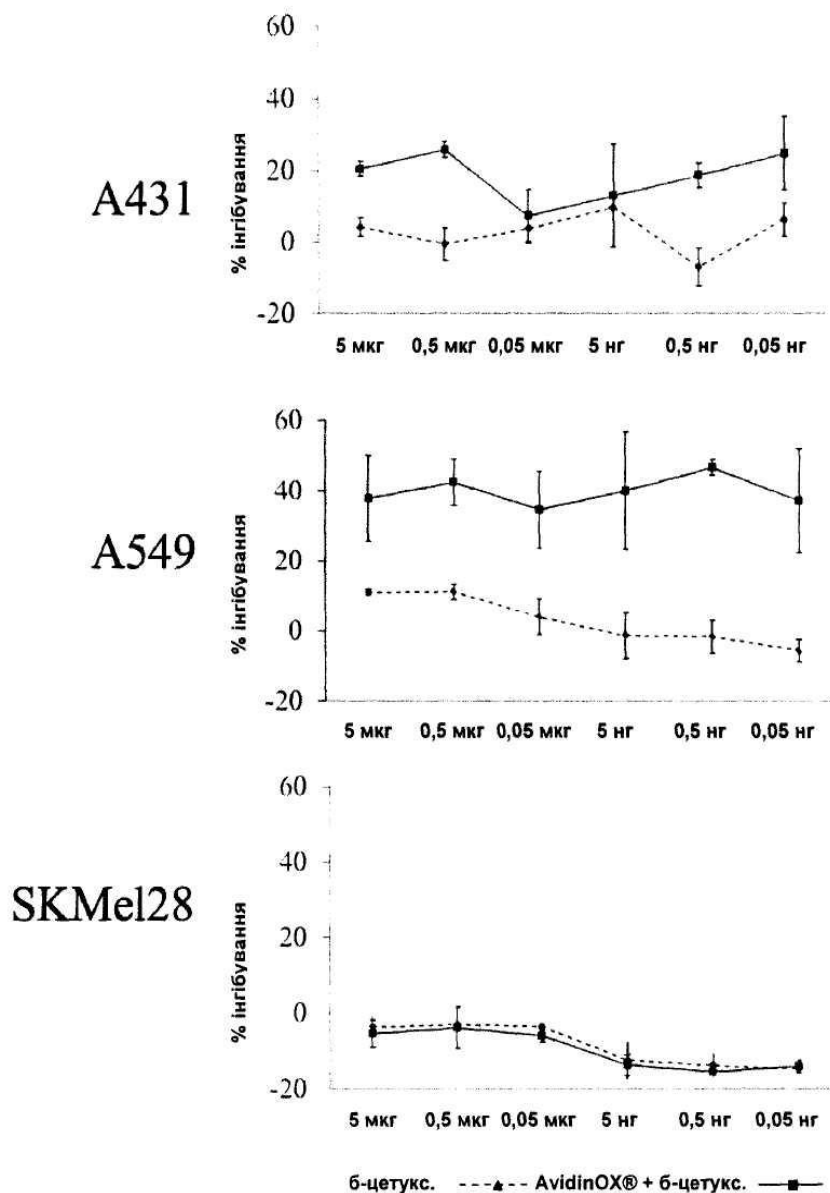
Фігура 9

A431

SKMel28



Фігура 10



Комп'ютерна верстка О. Рябо

Міністерство економічного розвитку і торгівлі України, вул. М. Грушевського, 12/2, м. Київ, 01008, Україна

ДП "Український інститут інтелектуальної власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601