



УКРАЇНА

(19) UA

(11) 114620

(13) C2

(51) МПК

A61K 39/395 (2006.01)

C07K 16/24 (2006.01)

A61P 19/02 (2006.01)

A61P 17/06 (2006.01)

МІНІСТЕРСТВО
ЕКОНОМІЧНОГО
РОЗВИТКУ І ТОРГІВЛІ
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

(21) Номер заявки:	а 2014 09450	(72) Винахідник(и):	Корвері Вінсент Джон (US), Уільямс Барбара Енн (US), Донован Патрік Деніел (US), Маркем Арон Пол (US)
(22) Дата подання заявки:	01.03.2013	(73) Власник(и):	ЕЛІ ЛІЛЛІ ЕНД КОМПАНІ, Lilly Corporate Center, Indianapolis, Indiana 46285, United States of America (US)
(24) Дата, з якої є чинними права на винахід:	10.07.2017	(74) Представник:	Шляховецький Ілля Олександрович, реєстр. №190
(31) Номер попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції:	61/607,671	(56) Перелік документів, взятих до уваги експертизою:	WO 2007/070750 A1, 21.06.2007 WO 2008/068246 A1, 12.06.2008 HE F. ET AL. Screening of monoclonal antibody formulations based on high- throughput thermostability and viscosity measurements: Design of experiment and statistical analysis / JOURNAL OF PHARMACEUTICAL SCIENCES 2011 JOHN WILEY AND SONS INC. USA. - 04.2011. - vol. 100, № 4. - P. 1330 - 1340
(32) Дата подання попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції:	07.03.2012		
(33) Код держави-учасниці Паризької конвенції, до якої подано попередню заявку:	US		
(41) Публікація відомостей про заявку:	25.11.2014, Бюл.№ 22		
(46) Публікація відомостей про видачу патенту:	10.07.2017, Бюл.№ 13		
(86) Номер та дата подання міжнародної заявки, поданої відповідно до Договору РСТ	PCT/US2013/028516, 01.03.2013		

(54) ФАРМАЦЕВТИЧНА КОМПОЗИЦІЯ, ЯКА МІСТИТЬ АНТИ-IL-17-АНТИТІЛО

(57) Реферат:

Винахід стосується фармацевтичної композиції, яка містить анти-IL-17-антитіло в концентрації від приблизно 80 мг/мл до приблизно 150 мг/мл, цитратний буфер в концентрації приблизно 20 мМ, хлорид натрію в концентрації приблизно 200 мМ та полісорбат-80 в концентрації від приблизно 0,02 % у відношенні маси до об'єму при рН приблизно 5,7; способу лікування ревматоїдного артриту, псоріазу, анкілозуючого спондиліту, псоріатичного артриту або множинної мієломи.

UA 114620 C2

Цей винахід належить до галузі медицини. Конкретніше, цей винахід має відношення до фармацевтичної композиції на основі анти-IL-17-антитіл. Передбачається, що ця фармацевтична композиція на основі анти-IL-17-антитіл придатна для лікування ревматоїдного артриту (RA), псоріазу (Ps), анкілозуючого спондиліту (AS), псоріатичного артриту (PA) або

множинної мієломи (MM).

Фармацевтичні композиції на основі анти-IL-17-антитіл необхідні для лікування пацієнтів з ревматоїдним артритом, псоріазом, анкілозуючим спондилітом, псоріатичним артритом або множинною мієломою. Щоб антитіло могло бути доставлене пацієнту підшкірно, для таких фармацевтичних композицій необхідні певні концентрації анти-IL-17-антитіл. У фармацевтичній композиції з певною концентрацією анти-IL-17-антитіла необхідно підтримувати фізичну та хімічну стабільність анти-IL-17-антитіла з одночасним уникненням в'язкості, яка може збільшити час доставки й зусилля, необхідне для голки або автоінжекторного пристрою, що є неприйнятним.

Розкриті в WO 07/70750 анти-IL-17-антитіла нейтралізують біологічну активність, пов'язану з людським IL-17 (послідовність SEQ ID NO: 1). Крім того, в WO 07/70750 розкриті фармацевтичні композиції на основі моноклональних анти-IL-17-антитіл. Щодо деяких композицій на основі mAb 126 - анти-IL-17-антитіла, розкритого в WO 07/70750, - заявником в рамках цього винаходу були встановлені три проблеми, пов'язані з його стабільністю в розчинах при концентраціях, які становлять 50 мг/мл або більше: розділення рідких фаз, утворення гелю або перетворення твердої фази та хімічна нестабільність. Отже, для уникнення цих виявлених проблем необхідні фармацевтичні композиції з певними концентраціями анти-IL-17-антитіл. Існує потреба в альтернативних фармацевтичних композиціях на основі анти-IL-17-антитіл. Крім того, існує потреба в альтернативних рідких композиціях на основі анти-IL-17-антитіл.

Отже, в цьому винаході запропонована фармацевтична композиція, яка містить анти-IL-17-антитіло в концентрації в діапазоні від приблизно 80 мг/мл до приблизно 150 мг/мл, цитратний буфер в концентрації приблизно 20 мМ, хлорид натрію в концентрації приблизно 200 мМ, полісорбат-80 в концентрації в діапазоні від приблизно 0,02% (у відношенні маси до об'єму) до приблизно 0,03% (у відношенні маси до об'єму) при рівні pH приблизно 5,7, де згадане анти-IL-17-антитіло являє собою антитіло з легким ланцюгом (LC) і важким ланцюгом (HC), причому згаданий LC являє собою амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 4, а згаданий HC являє собою амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 5. У цьому винаході також запропонована фармацевтична композиція, яка містить анти-IL-17-антитіло в концентрації приблизно 80 мг/мл, цитратний буфер в концентрації приблизно 20 мМ, хлорид натрію в концентрації приблизно 200 мМ, полісорбат-80 в концентрації приблизно 0,03% при рівні pH приблизно 5,7, де згадане анти-IL-17-антитіло являє собою антитіло, яке містить два легкі ланцюги (LC) і два важкі ланцюги (HC), де кожен LC являє собою амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 4, і кожен HC являє собою амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 5.

Крім того, в цьому винаході запропонований спосіб лікування ревматоїдного артриту, псоріазу, анкілозуючого спондиліту, псоріатичного артриту або множинної мієломи, і цей спосіб включає введення пацієнту, який цього потребує, ефективної кількості фармацевтичної композиції за цим винаходом. Конкретніше, в цьому винаході запропонований спосіб лікування псоріазу, і цей спосіб включає введення пацієнту, який цього потребує, ефективної кількості фармацевтичної композиції за цим винаходом. У цьому винаході також запропонований спосіб лікування ревматоїдного артриту, і цей спосіб включає введення пацієнту, який цього потребує, ефективної кількості фармацевтичної композиції за цим винаходом. У цьому винаході також запропонований спосіб лікування псоріатичного артриту, і цей спосіб включає введення пацієнту, який цього потребує, ефективної кількості фармацевтичної композиції за цим винаходом. У цьому винаході також запропонований спосіб лікування анкілозуючого спондиліту, і цей спосіб включає введення пацієнту, який цього потребує, ефективної кількості фармацевтичної композиції за цим винаходом.

Крім того, в цьому винаході запропонована фармацевтична композиція за цим винаходом для застосування в терапії. Крім того, в цьому винаході запропонована фармацевтична композиція за цим винаходом для застосування в лікуванні ревматоїдного артриту, псоріазу, анкілозуючого спондиліту, псоріатичного артриту або множинної мієломи. Конкретніше, в цьому винаході запропонована фармацевтична композиція за цим винаходом для застосування в лікуванні псоріазу. У цьому винаході також запропонована фармацевтична композиція за цим винаходом для застосування в лікуванні ревматоїдного артриту. У цьому винаході також запропонована фармацевтична композиція за цим винаходом для застосування в лікуванні псоріатичного артриту. У цьому винаході також запропонована фармацевтична композиція за цим винаходом для застосування в лікуванні анкілозуючого спондиліту.

Крім того, в цьому винаході запропоноване застосування фармацевтичної композиції за цим винаходом у виготовленні лікарського засобу для лікування ревматоїдного артриту, псоріазу, анкілозуючого спондиліту, псоріатичного артриту або множинної мієломи. Конкретніше, в цьому винаході запропоноване застосування фармацевтичної композиції за цим винаходом у виготовленні лікарського засобу для лікування псоріазу. У цьому винаході також запропоноване застосування фармацевтичної композиції за цим винаходом у виготовленні лікарського засобу для лікування ревматоїдного артриту. У цьому винаході також запропоноване застосування фармацевтичної композиції за цим винаходом у виготовленні лікарського засобу для лікування псоріатичного артриту. У цьому винаході також запропоноване застосування фармацевтичної композиції за цим винаходом у виготовленні лікарського засобу для лікування анкілозуючого спондиліту.

Перевагу віддають певним фармацевтичним композиціям. Перелічені нижче набори ознак описують групи антитіл, яким віддають перевагу:

1) згадане анти-IL-17-антитіло являє собою антитіло з LCVR і HCVR, де згадана LCVR являє собою амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 2, а згадана HCVR являє собою амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 3, згадане анти-IL-17-антитіло являє собою антитіло з легким ланцюгом (LC) і важким ланцюгом (HC), причому згаданий LC являє собою амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 4, а згаданий HC являє собою амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 5, або згадане анти-IL-17-антитіло являє собою антитіло, яке містить два легкі ланцюги (LC) і два важкі ланцюги (HC), де кожен LC являє собою амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 4, а кожен HC являє собою амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 5;

2) згадане анти-IL-17-антитіло являє собою антитіло з легким ланцюгом (LC) і важким ланцюгом (HC), де згаданий LC являє собою амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 4, а згаданий HC являє собою амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 5;

3) згадане анти-IL-17-антитіло являє собою антитіло, яке містить два легкі ланцюги (LC) і два важкі ланцюги (HC), де кожен LC являє собою амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 4, а кожен HC являє собою амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 5;

4) концентрація згаданого анти-IL-17-антитіла становить в діапазоні від приблизно 80 мг/мл до приблизно 150 мг/мл;

5) концентрація згаданого анти-IL-17-антитіла становить приблизно 80 мг/мл;

6) концентрація згаданого полісорбату-80 становить в діапазоні від приблизно 0,02% (у відношенні маси до об'єму) до приблизно 0,03% (у відношенні маси до об'єму);

7) концентрація згаданого полісорбату-80 становить приблизно 0,03% (у відношенні маси до об'єму).

Перевагу віддають певним рідким фармацевтичним композиціям. Перелічені нижче набори ознак описують групи антитіл, яким віддають перевагу:

1) згадане анти-IL-17-антитіло являє собою антитіло з LCVR і HCVR, де згадана LCVR являє собою амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 2, а згадана HCVR являє собою амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 3, згадане анти-IL-17-антитіло являє собою антитіло з легким ланцюгом (LC) і важким ланцюгом (HC), причому згаданий LC являє собою амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 4, а згаданий HC являє собою амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 5, або згадане анти-IL-17-антитіло являє собою антитіло, яке містить два легкі ланцюги (LC) і два важкі ланцюги (HC), де кожен LC являє собою амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 4, а кожен HC являє собою амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 5;

2) згадане анти-IL-17-антитіло являє собою антитіло з легким ланцюгом (LC) і важким ланцюгом (HC), де згаданий LC являє собою амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 4, а згаданий HC являє собою амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 5;

3) згадане анти-IL-17-антитіло являє собою антитіло, яке містить два легкі ланцюги (LC) і два важкі ланцюги (HC), де кожен LC являє собою амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 4, а кожен HC являє собою амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 5;

4) концентрація згаданого анти-IL-17-антитіла становить в діапазоні від приблизно 80 мг/мл до приблизно 150 мг/мл;

5) концентрація згаданого анти-IL-17-антитіла становить приблизно 80 мг/мл;

6) концентрація згаданого полісорбату-80 становить в діапазоні від приблизно 0,02% (у відношенні маси до об'єму) до приблизно 0,03% (у відношенні маси до об'єму);

7) концентрація згаданого полісорбату-80 становить приблизно 0,03% (у відношенні маси до об'єму).

В одному з варіантів здійснення цього винаходу також запропонована фармацевтична композиція, яка містить анти-IL-17-антитіла в концентрації в діапазоні від приблизно 80 мг/мл до приблизно 150 мг/мл. В іншому варіанті здійснення цього винаходу запропонована

фармацевтична композиція, яка містить анти-IL-17-антитіла в концентрації в діапазоні від приблизно 68 мг/мл до приблизно 92 мг/мл. В іншому варіанті здійснення цього винаходу запропонована фармацевтична композиція, яка містить анти-IL-17-антитіла в концентрації приблизно 80 мг/мл. В іншому варіанті здійснення цього винаходу запропонована фармацевтична композиція, яка містить анти-IL-17-антитіла в концентрації приблизно 120 мг/мл. В іншому варіанті здійснення цього винаходу запропонована фармацевтична композиція, яка містить анти-IL-17-антитіла в концентрації приблизно 150 мг/мл.

В одному з варіантів здійснення цього винаходу також запропонована фармацевтична композиція, забуферена цитратним буфером у концентрації в діапазоні від приблизно 15 мМ до приблизно 25 мМ. В іншому варіанті здійснення цього винаходу запропонована фармацевтична композиція, забуферена цитратним буфером у концентрації в діапазоні від 15 мМ до 25 мМ. В іншому варіанті здійснення цього винаходу запропонована фармацевтична композиція, забуферена цитратним буфером у концентрації приблизно 15 мМ, приблизно 20 мМ, приблизно 25 мМ або приблизно 30 мМ. В ще одному варіанті здійснення цього винаходу запропонована фармацевтична композиція, забуферена цитратним буфером в концентрації приблизно 20 мМ.

В одному з варіантів здійснення цього винаходу також запропонована фармацевтична композиція, яка містить NaCl у концентрації в діапазоні від приблизно 200 мМ до приблизно 300 мМ. В іншому варіанті здійснення цього винаходу запропонована фармацевтична композиція, яка містить NaCl в концентрації в діапазоні від 175 мМ до 225 мМ. В іншому варіанті здійснення цього винаходу запропонована фармацевтична композиція, яка містить NaCl в концентрації приблизно 200 мМ, приблизно 250 мМ або приблизно 300 мМ. У ще одному варіанті здійснення цього винаходу запропонована фармацевтична композиція, яка містить NaCl в концентрації приблизно 200 мМ.

В одному з варіантів здійснення цього винаходу також запропонована фармацевтична композиція, яка містить полісорбат-80 або полісорбат-20 в концентрації в діапазоні від приблизно 0,01% до приблизно 0,04%. В іншому варіанті здійснення цього винаходу також запропонована фармацевтична композиція, яка містить полісорбат-80 або полісорбат-20 в концентрації в діапазоні від 0,02% до 0,04%. В іншому варіанті здійснення цього винаходу також запропонована фармацевтична композиція, яка містить полісорбат-80 або полісорбат-20 в концентрації приблизно 0,01%, приблизно 0,02%, приблизно 0,03% або приблизно 0,04%. У ще одному варіанті здійснення цього винаходу також запропонована фармацевтична композиція, яка містить полісорбат-80 або полісорбат-20 в концентрації приблизно 0,03%.

В одному з варіантів здійснення цього винаходу також запропонована фармацевтична композиція, рН якої становить у діапазоні від приблизно 5,4 до приблизно 6,0. В іншому варіанті здійснення цього винаходу також запропонована фармацевтична композиція, рН якої становить у діапазоні від 5,4 до 6,0. В іншому варіанті здійснення цього винаходу також запропонована фармацевтична композиція, рН якої становить приблизно 5,4, приблизно 5,7 або приблизно 6,0. У ще одному варіанті здійснення цього винаходу також запропонована фармацевтична композиція, рН якої становить приблизно 5,7.

Фармацевтичні композиції за цим винаходом містять цитратний буфер. Цитратний буфер можна одержати з використанням лимонної кислоти, дигідрату цитрату тринатрію та моногідрату лимонної кислоти, або з використанням моногідрату лимонної кислоти, двоосновного фосфату натрію та лимонної кислоти. Крім того, можна одержати цитратний буфер, який містить одноосновний цитрат натрію, тринатрієву сіль лимонної кислоти або гідрат триосновного цитрату натрію. За варіантом, якому віддають перевагу, цитратний буфер одержують з використанням дигідрату цитрату натрію та лимонної кислоти.

Антитіло mAb 126 являє собою анти-IL-17-антитіло, яке складається з двох легких ланцюгів (LC) і двох важких ланцюгів (HC), де кожен LC являє собою амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 4, а кожен HC являє собою амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 5, при цьому важкі ланцюги зшиті дисульфідними зв'язками.

Загальна структура антитіла добре відома в цій галузі. Антитіло типу IgG має чотири амінокислотні ланцюги (два "важкі" ланцюги і два "легкі" ланцюги), зшиті внутрішньоланцюговими та міжланцюговими дисульфідними зв'язками. Антитіла, які мають немодифіковані послідовності людського Fc-фрагмента, при експресії в певних біологічних системах глікозилюються на ділянці цього Fc-фрагмента. Антитіла також можуть глікозилюватись в інших положеннях. Фахівцеві в цій галузі буде зрозуміло, що антитіла для застосування в композиціях за цим винаходом можуть містити таке глікозилювання. Будови субодиниць і тривимірної будови антитіл добре відомі в цій галузі. Кожен важкий ланцюг містить N-кінцеву варіабельну ділянку важкого ланцюга (HCVR) і константну ділянку важкого ланцюга (HCCR). Константна ділянка важкого ланцюга в разі IgG, IgD, IgA складається з трьох доменів (CH1, CH2

і CH3); а в разі IgM і IgE - з чотирьох доменів (CH1, CH2, CH3 і CH4). Кожен легкий ланцюг містить варіабельну ділянку легкого ланцюга (LCVR) і константну ділянку легкого ланцюга (LCCR). Варіабельні ділянки кожної пари легкого/важкого ланцюгів утворюють активний центр антитіла.

Анти-IL-17-антитіло для застосування в композиціях за цим винаходом можна одержати способами, добре відомими в цій галузі, наприклад, із застосуванням технологій генної інженерії, технологій фагового дисплея, технологій одержання штучних антитіл або комбінацій таких технологій чи інших технологій, добре відомих в цій галузі. Способи одержання та очистки антитіл й антигензв'язувальних фрагментів добре відомі в цій галузі та можуть бути знайдені, наприклад, в Harlow and Lane (1988) *Antibodies, A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York, chapters 5-8 and 15, ISBN 0-87969-314-2.

Анти-IL-17-антитіло для застосування в композиціях за цим винаходом являє собою антитіло, одержане за способами генної інженерії та сконструйоване так, що воно має каркасні ділянки, шарнірні ділянки й константні ділянки людського походження, які є ідентичними каркасним ділянкам та константним ділянкам, які походять від геномних послідовностей людини або по суті ідентичними ним (по суті людськими). Повністю людськими каркасними ділянками, шарнірними ділянками й константними ділянками є відповідні послідовності людських зародкових ліній, а також послідовності з природними соматичними мутаціями та/або послідовності з генно-інженерними мутаціями. Антитіло для використання в композиції за цим винаходом може містити каркасні, шарнірні або константні ділянки, одержані з повністю людської каркасної, шарнірної або константної ділянки, яка містить одну або більше амінокислотну(-их) заміну(-ін), делецію(-ій) або додання(-нь). Крім того, згадане антитіло для застосування в композиції за цим винаходом є по суті неімуногенним в організмі людини.

Стабільність антитіла в розчині залежить від хімічної стійкості та фізичної стабільності антитіла в композиції, в якій це антитіло солюбілізується. До прикладів проблем хімічної стійкості, пов'язаних з антитілом в композиції, належать окислювання, деамідування та гідроліз. До прикладів проблем фізичної стабільності, пов'язаних з антитілом в композиції, належать агрегація та утворення гелю. Ще однією проблемою фізичної стабільності, пов'язаною з антитілами в рідкій композиції, може бути розділення рідких фаз (LLPS). LLPS в розчині антитіла зазвичай спочатку проявляється у вигляді опалесценції, з подальшим поділом на легку та важку фази. Температурою помутніння є температура першого спостереження LLPS за даних умов, температура помутніння відповідає температурі, при якій розчини стають білими і непрозорими внаслідок формування мікрофаз, які в решті-решт розділяються на важку і легку фази, що традиційно пов'язують з розділенням фаз.

Фармацевтична композиція являє собою стабільну композицію, де ступінь деградації, модифікації, агрегації білків/антитіл, які входять до її складу, а також ступінь втрати такими білками/антитілами біологічної активності й т.п. є достатньо контрольованим і не підвищується з часом до неприйнятного рівня. Стабільність може бути оцінена способами, добре відомими в цій галузі, в тому числі вимірюванням розсіювання світла зразком, позірною ослаблення світла (поглинання або оптична густина), розміру часток (наприклад, засобами гель-хроматографії за розміром молекул (SEC)), визначенням *in vitro* або *in vivo* біологічної активності та/або властивостей, які визначають засобами диференціальної сканувальної калориметрії (DSC). Енші методи оцінки стабільності є добре відомими в цій галузі й також можуть бути використані відповідно до цього винаходу. Відсоток мономера для фармацевтичної композиції на основі анти-IL-17-антитіла при вимірюванні засобами SEC має бути більшим за 90% після зберігання при температурі 5°C протягом 3 місяців, 6 місяців, 9 місяців, 12 місяців, 18 місяців або за варіантом, якому віддають перевагу, протягом 2 років. Для фармацевтичної композиції на основі анти-IL-17-антитіла відсоток загальних кислотних варіантів при вимірюванні засобами катіонообмінної хроматографії (CEX) не має перевищувати 30% після зберігання при температурі 5°C протягом 3 місяців, 6 місяців, 9 місяців, 12 місяців, 18 місяців або за варіантом, якому віддають перевагу, протягом 2 років. При вимірюванні ступеня чистоти засобами CE-SDS (капілярний електрофорез з додецилсульфатом натрію) фармацевтична композиція на основі анти-IL-17-антитіла повинна мати чистоту більше 85% після зберігання при температурі 5°C протягом 3 місяців, 6 місяців, 9 місяців, 12 місяців, 18 місяців або за варіантом, якому віддають перевагу, протягом 2 років. За варіантом, якому віддають перевагу, фармацевтична композиція на основі анти-IL-17-антитіла відповідає одній із зазначених вище ознак стабільності при температурі 5°C в розчині, що зберігається протягом двох років. За варіантом, якому віддають більшу перевагу, фармацевтична композиція на основі анти-IL-17-антитіла відповідає всім зазначеним вище ознакам стабільності при температурі 5°C в розчині, що зберігається протягом двох років.

Фармацевтичні композиції за цим винаходом можуть являти собою рідку лікарську форму: розчин, емульсію або суспензію. За варіантом, якому віддають перевагу, фармацевтичні композиції за цим винаходом являють собою рідку лікарську форму розчину.

Введення фармацевтичних композицій за цим винаходом може здійснюватись шляхом парентерального введення. Парентеральне введення в медичній літературі зазвичай означає ін'єкцію лікарської форми в організм із застосуванням стерильного шприца або іншого механічного пристрою, такого як інфузійний насос. Парентеральні шляхи можуть включати внутрішньовенний, внутрішньом'язовий, підшкірний та внутрішньоочеревинний шляхи введення. Перевагу віддають підшкірному введенню.

Фармацевтичні композиції за цим винаходом можуть бути використані для лікування пацієнтів з ревматоїдним артритом, псоріазом, анкілозуючим спондилітом, псоріатичним артритом або множинною мієломою. Ефективною кількістю фармацевтичної композиції на основі анти-IL-17-антитіла за цим винаходом є кількість, яка доставляє таку кількість анти-IL-17-антитіла, яка призводить до бажаного терапевтичного ефекту та/або профілактичного ефекту, не викликаючи неприйнятних побічних ефектів при введенні суб'єкту з підвищеними рівнями IL-17.

Приклад 1

Композиція на основі mAb 126

Таблиця 1

Композиція на основі mAb 126

Складник	Концентрація (мг/мл)
Антитіло mAb 126	80
Дигідрат цитрату натрію	5,106
Безводна лимонна кислота	0,507
Хлорид натрію	11,69
Полісорбат-80	0,30
Вода для ін'єкцій	кількість до 1 мл
Хлористоводнева кислота	регулювання pH
Гідроксид натрію	регулювання pH

Таблиця 2

Наповнювачі в складі буферного розчину

Складник	Концентрація (мг/мл)
Дигідрат цитрату натрію	5,106
Безводна лимонна кислота	0,507
Хлорид натрію	11,69
Полісорбат-80	0,414

Процес виготовлення рідкої фармацевтичної композиції на основі анти-IL-17-антитіла mAb 126 (Таблиця 1) включає початкове змішування наповнювачів, що входять до складу буферного розчину (Таблиця 2), з подальшим складанням кінцевої композиції.

Суміш наповнювачів, які входять до складу буферного розчину (Таблиця 2), одержують, фільтрують, і зберігають для використання при виготовленні композиції на основі лікарського препарату. Необхідну кількість води при температурі $20 \pm 5^\circ\text{C}$ відважують до зваженої порожньої ємності прийнятного розміру. Додають необхідну кількість цитрату натрію, і перемішують, потім додають необхідну кількість лимонної кислоти, і перемішують. Далі, додають необхідну кількість хлориду натрію, і перемішують. В скляну ємність точно відважують полісорбат-80, в цю ємність додають необхідну кількість води з температурою $20 \pm 5^\circ\text{C}$ до одержання концентрації, зазначеної в Таблиці 2, і одержаний розчин перемішують. Розчин полісорбату-80 в повному об'ємі додають до інших наповнювачів. Ємність, де знаходився розчин полісорбату-80, промивають водою для перенесення повного об'єму. Після додання розчину полісорбату-80 одержаний розчин перемішують. Після завершення розчинення та змішування перевіряють, що pH розчину становить в межах $5,7 \pm 0,2$, при необхідності регулюють розчином HCl або NaOH. Суміш наповнювачів буферного розчину пропускають через фільтр (полівініліденфторид

[PVDF]) для зменшення біонавантаження.

Суміш наповнювачів буферного розчину доповнюють додатковою кількістю полісорбату-80 для коригування більш низької концентрації (0,2 мг/мл полісорбату-80) в активному фармацевтичному інгредієнті (API) порівняно з кінцевою композицією лікарського продукту. Оскільки концентрація mAb 126 в API буде змінюватись, кількість буфера, необхідна для розбавлення, також буде змінюватись. Ця зміна вимагає регулювання концентрації кожної партії полісорбату-80 у складі суміші наповнювачів, які входять до складу буферного розчину.

Ємності з активним фармацевтичним інгредієнтом mAb 126, що перебували на зберіганні (mAb 126 експресують в клітинах, очищають, і концентрують; після цього одержаний API заморожують в концентрації від приблизно 150 мг/мл до приблизно 160 мг/мл антитіла mAb 126 в розчині, який містить 20 мМ цитратного буфера, 200 мМ NaCl, 0,02% полісорбату-80, з рівнем pH приблизно 5,7), зрівноважують до температури $20 \pm 5^\circ\text{C}$. Після цього розчин API змішують з відповідною кількістю розчину наповнювачів, які входять до складу буферного розчину, для досягнення 80% від теоретичного розміру партії. Рівень pH розчину підтримують в межах $5,7 \pm 0,2$. Після регулювання pH розчин перемішують, і відбирають пробу для поточного УФ-дослідження для визначення концентрації mAb 126. Додають необхідну кількість розчину наповнювачів, що входять до складу буферного розчину, для досягнення кінцевої цільової маси партії. Після змішування рівень pH розчину підтримують в межах $5,7 \pm 0,2$, і осмоляльність розчину підтримують в межах 360-480 мОсм/кг. Розчин лікарського продукту з mAb 126 пропускають через PVDF фільтр для зменшення біонавантаження, і зберігають при температурі 5°C .

Приклад 2

Розділення фаз

Встановлено, що антитіло mAb 126 має схильність до розділення фаз при перебуванні в розчинах з температурою нижче 0°C . Проблема розділення рідких фаз (LLPS) має бути вирішена, оскільки лікарський продукт на основі mAb 126 зберігатиметься при температурі 5°C . Лікарський препарат, який зберігають при температурі 5°C , має бути стабільним, оскільки температура холодильника може періодично опускатись нижче 0°C . Визначено, що збільшення концентрації NaCl знижує температуру, при якій відбувається LLPS композицій на основі mAb 126; також показано, що збільшення концентрації цитрату знижує температуру, при якій відбувається LLPS композицій на основі mAb 126.

Розділення рідких фаз досліджують на основі методики, розробленої спеціально для діапазону температур (розділення фаз відбувається в діапазоні температур між -12°C і 0°C), впливу яких піддають mAb 126. Зразки об'ємом два мілілітри (мл) з концентрацією mAb 126 від 10 мг/мл до 200 мг/мл розміщують в ліофілізаційному пристрої LyoStar II (компанія FTS Systems) з циклом, представленим в Таблиці 3. Тиск під час проведення експериментів підтримують на рівні атмосферного. Зразки випробовують щонайменше тричі, при цьому стандартне відхилення для зразків (з потрійним повторенням) становить приблизно $0,5^\circ\text{C}$. Під час циклу ліофілізації зразки візуально контролюють на ознаки розділення фаз, у тому числі температуру помутніння (білий непрозорий зовнішній вигляд) і утворення щільного, збагаченого білком, шару в нижній частині флакона. Опалесцювання зразків посилюється під час охолодження, але цей ефект легко відрізнити від температури помутніння. При температурі помутніння зразок перетворюється на непрозорий розчин білого кольору менш ніж за секунду на противагу поступовому посиленню опалесценції, коли певний об'єкт, що знаходиться за флаконом, все ще залишається видимим через зразок.

Таблиця 3

Ліофілізаційний цикл для дослідження розділення рідких фаз

Стадія	1	2	3
Швидкість охолодження ($^\circ\text{C}/\text{хв}$)	5	1	5
Цільова температура ($^\circ\text{C}$)	5	-30	20
Час витримування (хв)	10	20	>20

Як показано в Таблиці 4, підвищення концентрації NaCl знижує температуру помутніння. Факторами, що обмежують підвищення концентрації NaCl у фармацевтичній композиції на основі анти-IL-17-антитіла, є гіпертонічність та інші ефекти, які не належать до розділення фаз; концентрація NaCl 200 мМ дозволяє уникнути цих проблем з одночасним зниженням температури помутніння. Крім того, визначено, що LLPS у разі mAb 126 є бімодальним при всіх

концентраціях NaCl, за винятком концентрації 300 мМ розчину NaCl; LLPS є найсильнішим при концентрації mAb 126 100 мг/мл, і вплив розділення фаз зменшується при зміні концентрації вище або нижче 100 мг/мл.

Таблиця 4

Розділення рідких фаз: Вплив концентрації NaCl і mAb 126 (температура помутніння °C)

Концентрація mAb 126 (мг/мл)	10	50	100	150	200
50 мМ розчин NaCl	-4,1	2,1	5		
100 мМ розчин NaCl		-1,2	2,7	1,1	
150 мМ розчин NaCl		-7,5	-4	-5,7	-10,4
200 мМ розчин NaCl		-8,5	-7	-10,2	-10,8
250 мМ розчин NaCl			-6,8	-11,3	
300 мМ розчин NaCl		-12,5	-9,9	-12,4	-8,8

5

Визначення впливу рівня pH на температуру помутніння розчину mAb 126. Встановлено, що температура помутніння зменшується при двох рівнях pH: pH 4 і pH 6. При виборі композиції mAb 126 рівень pH 6 слід вважати оптимальним, на відміну від pH 4, оскільки хімічна нестабільність mAb 126 при pH 4 перешкоджає використанню низької температури помутніння при pH 4. Враховуючи описане нижче в Прикладі 3 утворення гелю у разі фармацевтичних композицій на основі mAb 126 при pH 6,3-6,4, для забезпечення діапазону pH, який залишається стабільним протягом всього терміну зберігання згаданої фармацевтичної композиції, рівню pH 5,7±0,3 віддають перевагу над рівнем pH 6±0,3.

10

Щоб зрозуміти, якою має бути оптимальна буферна система для mAb 126, досліджують вплив різних традиційно використовуваних буферів на розділення рідких фаз (Таблиця 5). Встановлено, що цитратний буфер є найбільш ефективним для зниження температури, при якій відбувається LLPS. Ці дослідження проводять з 150 мМ розчином NaCl. Щодо впливу на температуру помутніння при pH 5 ацетатний буфер є порівняним з цитратним буфером, проте, хімічна нестабільність при pH 5 робить це значення pH менш сприятливим.

15

Показано, що підвищення концентрації цитрату позитивно впливає на LLPS (Таблиця 6). Разом з тим що цитрат знижує температуру помутніння до 50 мМ, відомо, що цитратний буфер спричинює більш інтенсивний біль під час ін'єкції. Так, концентрації цитрату більші за 30 мМ, ймовірно, будуть неприйнятними при узгодженні з пацієнтами.

20

Таблиця 5

Вплив буфера на температуру помутніння при концентрації mAb 126 150 мг/мл

Буфер	Концентрація (мМ)	Рівень pH	Температура помутніння (°C)
Ацетат	10	5	-4,1
Цитрат	10	5	-4,4
Гістидин	10	6	-2,2
Цитрат	10	6	-8,1

25

Таблиця 6

Розділення рідких фаз: Вплив концентрації цитрату при концентрації mAb 126 150 мг/мл

Концентрація цитрату	Температура помутніння (°C)
5 мМ	-6,3
10 мМ	-8,2
20 мМ	-10,2
30 мМ	-13,6
40 мМ	-14,6

Приклад 3

Утворення гелю

Біологічні лікарські продукти зберігають при температурі 5±3°C, щоб звести до мінімального

рівня хімічну та фізичну деградацію протягом усього терміну зберігання продукту. Такі явища, як термодинамічне перетворення твердої фази або утворення гелю зазвичай є неприйнятними, навіть якщо вони є зворотними, оскільки вони можуть негативно впливати на стабільність і перешкоджати проведенню необхідної візуальної перевірки зразків перед використанням.

Перетворення твердої фази спостерігається в зразках з високою концентрацією mAb 126 при рівні pH менше pH 5 і більше pH 7 при температурі 5°C. Показано, що це термодинамічне явище є зворотним при зрівноваженні флаконів при кімнатній температурі. Отже, зразки випробовують при різних рівнях pH з контролюванням термодинамічних перетворень для більш точного визначення міжфазових меж. Ці випробування проводять діалізом зразків в цитратному буфері (pH 7) при температурі 5°C для індукування перетворення фаз. Потім тверду речовину діалізують при тій самій температурі за умов, що становлять інтерес, для визначення, чи відбудеться зворотний процес повернення зразків до стану розчину. Спосіб випробування зі зрівноваженням є переважнішим за тривале зберігання зразку з періодичними перевірками, оскільки, разом з тим, що конкретна композиція може бути термодинамічно нестійкою, перетворення твердої фази в деяких випадках може відбуватися протягом місяців.

Дослідження виконують з 100 мг/мл або 150 мг/мл зразками mAb 126 у розчині, який містить 200 мМ NaCl та 10 мМ цитратного буфера з приростом pH, який становить 0,1 одиниці, для визначення меж формування твердої фази. Визначили, що при температурі 5°C міжфазовий перехід відбувається в діапазоні від pH 6,3 до pH 6,4. Беручи до уваги міжфазну межу, для забезпечення вікна стабільного зберігання цільовий рівень pH для композиції на основі mAb 126 зменшують з pH 6 до pH 5,7.

Здійснили два експерименти з концентрацією mAb 126 80 мг/мл при температурі 5°C в розчині, який містив 20 мМ цитратного буфера, 200 мМ NaCl і 0,03% полісорбату-80. При рівні pH 6,1 або нижче ознак гелеутворення не спостерігалось, тоді як при pH вище 6,1 гелеутворення відбувається. Ці експерименти показують, що композиція з концентрацією mAb 126 80 мг/мл має вікно стабільного зберігання шириною pH $5,7 \pm 0,3$ одиниці pH, що дозволяє уникнути утворення гелю.

Приклад 4

Хімічна нестабільність

Для забезпечення стабільності фармацевтичної композиції необхідно вирішити проблеми з джерелами як фізичної нестабільності, так і хімічної нестабільності композиції. Хімічна нестабільність може привести до деградації антитіла.

Для оцінки впливу рівня pH на хімічну стабільність антитіла mAb 126 в концентрації 100 мг/мл і 150 мг/мл зразки mAb 126 досліджують на збільшення загального відсотка кислотних варіантів засобами хроматографії. Діапазон pH від 4 до 7 досліджують з приростом 0,5 одиниці pH. Буфер для дослідження містить 10 мМ цитратного буфера, 150 мМ NaCl і 0,02% полісорбату-80. Розчини (по 2 мл) зберігають в 3 мл скляних флаконах з сироватковими затворами. Зразки в середовищах з такими значеннями pH зберігають при температурі 5°C, 25°C і 40°C для більш точного моделювання впливу температури на різні форми деградації. Зразки досліджують засобами катіонообмінної (CEX) вискоєфективної рідинної хроматографії (ВЕРХ) із застосуванням УФ-детектора і колонки Dionex ProPac WGX-10 (4x250 мм) з використанням розчину, який містить 10 мМ біс-трис пропану (pH 6) (рухома фаза А) і розчину, який містить 10 мМ біс-трис пропану та 50 мМ NaCl (pH 9,6) (рухома фаза В).

Збільшення загального відсотка кислотних варіантів (% AV), визначене засобами CEX, є більш надійним показником деградації mAb 126. За даними CEX, зразки mAb 126 у флаконах, які зберігали при температурі 25°C, є найбільш стабільними при pH 5-6, а найменш стабільними при більш лужних значеннях pH. Найбільш стабільними є зразки, які зберігаються при температурі 40°C, з pH 5-5,5, причому при pH 6 зразки видаються лише трохи більш стабільними, ніж при більш високих значеннях pH. Ці результати показують, що рівень pH рідкої фармацевтичної композиції на основі mAb 126 має становити в межах pH 5 і pH 6.

Приклад 5

Дослідження планування експерименту (DOE)

При DOE вдаються до багатовимірної підходу для вивчення фізичної та хімічної стабільності рідких композицій на основі mAb 126. Рідкі композиції на основі mAb 126 одержують відповідно до Таблиці 7. Кожна змінна досліджується на п'яти рівнях для визначення будь-якого відхилення, яке може спостерігатися в параметрах кінцевого реагування або взаємодії між вхідними змінними. Умовами центральної точки експерименту є розчин, який містить 20 мМ цитрату, 200 мМ NaCl, 0,02% полісорбату-80 (pH 5,7). У плані експерименту розосереджені три центральні точки. Незалежна підготовка трьох центральних точок забезпечує оцінку достовірності аналітичних даних, не вимагаючи підготовки всіх умов та їх

подвійного або потрійного аналізу. Зразки зберігають при чотирьох температурних умовах (5°C, 25°C, 30°C і 40°C). Цей діапазон температур дозволяє оцінювати енергію активації для одержаних композицій. Крім того, більш висока температура зберігання дозволяє раніше спрогнозувати оптимальні умови одержання лікарської форми.

- 5 Для моніторингу хімічної та фізичної стабільності вибрали ряд аналітичних методів, у тому числі гель-хроматографію за розміром молекул (SEC), катіонообмінну (CEX) вискоєфективну рідинну хроматографію, аналіз частинок за допомогою гранулометричного аналізатора HIAС, аналіз частинок на основі цифрових зображень за допомогою візуалізації мікропотуку (MFI, Protein Simple, компанія Brightwell, Модель DPA 4200 з гранулометричним діапазоном 2-100
- 10 мкм), аналіз зовнішнього вигляду, дослідження із застосуванням зменшеної та стандартної версій мікрорідинного біоаналізатора Lab-on-a-Chip (LoC), аналіз рівня pH, в'язкості та поглинання в ультрафіолетовій ділянці спектра (для вимірювання вмісту білка).

- Використовуючи дані, одержані при всіх температурах впродовж початкового тримісячного періоду, розраховують енергію активації (Ea) з використанням кінетичної моделі відповідно до закону Арреніуса (нульового або першого порядку). Енергію визначають із застосуванням нелінійної регресії всіх серій експериментів. У подальшому цю модель використовують для екстраполяції усереднених даних до 24 місяців при звичайних температурах зберігання (5°C). Моделювання на основі закону Арреніуса нульового порядку використовують для дослідження засобами SEC (мономер, полімер, відносна заміна/домішки), CEX (кислотні варіанти),
- 20 дослідження із застосуванням зменшеної та стандартної версії LoC і для визначення складу за поглинанням в ультрафіолетовій ділянці спектру. Найкращу відповідність усередненим даним базового варіанта CEX демонструє модель першого порядку.

Таблиця 7

План експерименту

Серія експерименту	pH	[Полісорбат-80]	[NaCl]	[mAb 126]	[Буфер]	Тип буфера
1	5,7	0,02	200	120	20	Цитрат
2	6	0,01	150	105	25	Цитрат
3	6	0,03	150	105	15	Цитрат
4	5,7	0	200	120	20	Цитрат
5	5,4	0,03	150	135	15	Цитрат
6	6	0,01	250	105	15	Цитрат
7	5,7	0,02	200	90	20	Цитрат
8	5,7	0,02	100	120	20	Цитрат
9	6,3	0,02	200	120	20	Цитрат
10	5,1	0,02	200	120	20	Цитрат
11	6	0,03	250	105	25	Цитрат
12	5,4	0,01	150	105	15	Цитрат
13	5,4	0,03	250	135	25	Цитрат
14	6	0,03	150	135	25	Цитрат
15	5,7	0,02	200	120	20	Цитрат
16	5,7	0,02	200	120	10	Цитрат
17	5,4	0,01	250	135	15	Цитрат
18	5,4	0,01	150	135	25	Цитрат
19	6	0,03	250	135	15	Цитрат
20	5,7	0,04	200	120	20	Цитрат
21	5,4	0,03	250	105	15	Цитрат
22	6	0,01	150	135	15	Цитрат
23	5,4	0,03	150	105	25	Цитрат
24	5,7	0,02	300	120	20	Цитрат
25	5,7	0,02	200	150	20	Цитрат
26	6	0,01	250	135	25	Цитрат
27	5,4	0,01	250	105	25	Цитрат
28	5,7	0,02	200	120	30	Цитрат
29	5,7	0,02	200	120	20	Цитрат

Гель-хроматографія за розміром молекул

Двома змінними з найсильнішим впливом на відсотковий вміст мономера за результатами SEC є рівень pH і концентрація mAb 126. Вплив концентрації mAb 126 зі збільшенням

концентрації білка змінюється лінійно, що призводить до зниження чистоти мономера. Три вхідні змінні (рівень pH, концентрація NaCl і концентрація буфера) демонструють нелінійність їхнього впливу на відсотковий вміст мономера. Щодо концентрації NaCl і концентрації цитрату, найбільш стабільними є значення поблизу центральної точки. Більш низькі рівні pH є трохи більш стабільними, ніж центральна точка, але інші наслідки руйнування

роблять зниження цільового рівня pH менш привабливим. Вплив рівня pH на концентрацію білка проявляється в зниженні концентрації білка при pH нижче 5,7. Дворічний прогноз відносно чистоти мономера за експериментальних умов центральної точки є трохи нижчим за 96,7%. Концентрація полісорбату-80 у межах 0,02-0,04% справляє незначний вплив на стабільність.

Катіонообмінна хроматографія

Аналіз CEX зосереджений на збільшенні кислотних іонів з плином часу. Статистичне моделювання засобами CEX відсотка кислотних варіантів (Еа 23,7 ккал/г-моль (99,23 кДж/моль)) показує, що після 24-місячного зберігання при температурі 5°C слід очікувати незначних хімічних перетворень. Утворення кислотних варіантів мінімальне поблизу центральної точки для рівня pH, але зростає зі збільшенням концентрації цитрату. Характер впливу концентрації mAb 126 і концентрації полісорбату-80 свідчить про те, що центральна точка є близькою до найменшого оптимального положення; проте, з огляду на масштаб осі у, різниця стабільності в центральній точці в порівнянні з іншими умовами є, по суті, незначною.

Зменшена версія біоаналізатора LoC

Відсоток чистоти за даними, одержаними із застосуванням зменшеної версії біоаналізатора LoC, являє собою комбінацію значень вмісту важких і легких ланцюгів у відносних відсотках. Двома вхідними змінними з найсильнішим впливом на 24-місячні прогнози є рівень pH і концентрація mAb 126. Відсоткова чистота є максимальною поблизу центральної точки в 200 mM NaCl. Відсоток чистоти зростає із збільшенням рівня pH. Навіть за крайніх умов одержання композиції, випробовуваних при дослідженні DOE, чистота молекули все ще залишається на рівні >98%, що вказує на стабільність антитіла за результатами визначення із застосуванням зменшеної версії LoC в діапазоні багатофакторного аналізу. Енергія активації становить 21,8 ккал/г-моль (91,27 кДж/моль).

Комбіновані прогнози

Усі умови, які належать до області планування, досліджені в цьому експерименті, мають завбачені значення для 2-річного терміну зберігання, які передбачають деградацію <5%. Проте, інші фізичні фактори виключають використання рівня pH вище pH 6,3. Отже, цільові умови для композиції не мають наближатись до цього крайнього значення pH. Крім того, для досліджених вхідних змінних важливо вибрати цільові умови, що знаходяться в оптимальному загальному максимумі. Виходячи з виробничої доцільності, яка вказує, що при перенесенні витрачається >0,01% полісорбату-80, цільовий вміст полісорбату-80 становить 0,03%. На підставі результатів цього дослідження оптимальними умовами одержання композиції є 20 mM цитрату, 200 mM NaCl, 0,03% полісорбату-80 (pH 5,7).

Приклад 6

Стабільність при концентрації mAb 126 80 мг/мл

Стабільність антитіла mAb 126 в концентрації 80 мг/мл в розчині (pH 5,7), який містить 20 mM цитрату, 200 mM NaCl, 0,03% полісорбату-80, перевіряли впродовж 24 місяців. Стабільність фармацевтичної композиції на основі анти-IL-17-антитіла при зберіганні при температурі 5°C оцінювали через 0 місяців, 1 місяць, 3 місяці, 6 місяців, 9 місяців, 12 місяців, 18 місяців і 24 місяці. Температура 5°C являє собою очікувану температуру зберігання фармацевтичної композиції на основі анти-IL-17-антитіла. Прискорені дослідження стабільності при температурі 25°C здійснювали протягом 1 місяця, 3 місяців і 6 місяців.

Для відстежування хімічної та фізичної стабільності вибрали ряд аналітичних методів, в тому числі гель-хроматографію за розміром молекул, катіонообмінну хроматографію ВЕРХ, аналіз зовнішнього вигляду, аналіз рівня pH і аналіз поглинання в ультрафіолетовій ділянці спектра. Капілярний електрофорез з додецилсульфатом натрію (CE-SDS) здійснюють із застосуванням набору Beckman Coulter IgG Purity/Heterogeneity kit на системі капілярного електрофорезу (CE) Beckman Coulter ProteomeLab PA800 Enhanced або Plus. При відновному CE-SDS зразки досліджують у капілярній трубці зі кварцового скла, виготовленій плавленням високочистого діоксиду кремнію, за денатурувальних відновних умов молекулярним

- 5 просіюванням через змінну гелеву полімерну матрицю після впорскування кожного зразка. При невідновному CE-SDS зразки розбавляють у воді до концентрації приблизно 5 мг/мл, а потім розводять в розріджувачі для зразків (20 мМ ІАМ в 100 мМ Трис-буфера, 1% SDS, pH 9,0) до концентрації приблизно 1 мг/мл. Після цього проби досліджують в капілярній трубці з кварцового скла, виготовленій плавленням високочистого діоксиду кремнію, за денатурувальних відновних умов молекулярним просіюванням через змінну гелеву полімерну матрицю при постійній напрузі. Для обох методів УФ-детектування здійснюють при 214 нм. Результати наведені в Таблиці 8.

Таблиця 8

Дані про стабільність mAb 126 в концентрації 80 мг/мл

Аналітична характеристика	Умови зберігання	Місяць				
		0	1	3	6	9
Активність (кількісне визначення біологічної активності), %	5°C	87	-	-	-	108
	25°C/60% RH (відносна вологість)		106	-	109	-
Кількість речовини (УФ), мг/мл	5°C	75,4	-	76,2	75,5	75,4
	25°C/60% RH		75,3	76,0	76,5	-
Чистота мономера (SEC), %	5°C	98,3	-	98,1	98,3	97,9
	25°C/60% RH		98,3	97,6	97,6	-
Відносні заміни/домішки: разом (SEC), %	5°C	1,7	-	1,9	1,7	2,1
	25°C/60% RH		1,7	2,4	2,4	-
Чистота mAb 126 (відновна CE-SDS), %	5°C	97,8	-	97,4	97,3	97,2
	25°C/60% RH		97,4	96,9	96,3	-
Гетерогенність заряду (CEX) [головний пік], %	5°C	53,9	-	53,0	54,1	55,1
	25°C/60% RH		56,7	59,7	60,0	-
Гетерогенність заряду (CEX) [кислотні варіанти], %	5°C	13,4	-	15,4	15,3	16
	25°C/60% RH		15,8	21,4	27,4	-
Гетерогенність заряду (CEX) [основні варіанти], %	5°C	32,8	-	31,6	30,7	28,9
	25°C/60% RH		27,5	18,8	13,0	-
Аналіз рівня pH	5°C	5,7	-	5,7	5,7	5,7
	25°C/60% RH		5,7	5,7	5,7	-
Фізичний вигляд	5°C	Не пере- вір.	Про- пущ.*	-	-	Про- пущ.
	25°C/60% RH		Не пере- вір.	-	-	-
Тверді частинки (більші за або такі, що відповідають 10 мкм), частинок на ємність	5°C	289	-	131	184	63
	25°C/60% RH		194	177	369	-
Тверді частинки (більші за або такі, що відповідають 25 мкм), частинок на ємність	5°C	9	-	8	31	3
	25°C/60% RH		4	60	20	-

* Під час випуску партії або через 1 місяць фізичний вигляд не оцінювали. Наведений результат одержали після зберігання при температурі 5°C протягом приблизно 2,5 міс.

Лістинг послідовностей

SEQ ID NO: 1 (людський IL-17)

MTPGKTSLSV	LLLLLSLEAI	VKAGITIPRN	PGCPNSEDKN	FPRTVMVNLN
IHNRTNTNP	KRSSDYNNRS	TSPWNLHRNE	DPERYPSVIW	EAKCRHLGCI
NADGNVDYHM	NSVPIQQEIL	VLRREPPHCP	NSFRLEKILV	SVGCTCVTPI

VHHVA

SEQ ID NO: 2 (LCVR)

DIVMTQTPLS	LSVTPGQPAS	ISCRSSRSLV	HSRGNTYLHW	YLQKPGQSPQ
LLIYKVSNR	IGVPDRFSGS	GSGTDFTLKI	SRVEAEDVGV	YYCSQSTHLP

FTFGQGKLE IK

SEQ ID NO: 3 (HCVR)

QVQLVQSGAE	VKKPGSSVKV	SCKASGYSFT	DYHIHWVRQA	PGQGLEWMGV
INPMYGTDDY	NQRFKGRVTI	TADESTSTAY	MELSSLRSED	TAVYYCARYD

YFTGTGVYWG QGTLVTVSS

SEQ ID NO: 4 (Легкий ланцюг)

DIVMTQTPLS	LSVTPGQPAS	ISCRSSRSLV	HSRGNTYLHW	YLQKPGQSPQ
LLIYKVSNR	IGVPDRFSGS	GSGTDFTLKI	SRVEAEDVGV	YYCSQSTHLP
FTFGQGKLE	IKRTVAAPSV	FIFPPSDEQL	KSGTASVVCL	LNNFYPREAK
VQWKVDNALQ	SGNSQESVTE	QDSKDSTYSL	SSTLTLSKAD	YEKHKVYACE

VTHQGLSSPV TKSFNRGEC

SEQ ID NO: 5 (Важкий ланцюг)

QVQLVQSGAE	VKKPGSSVKV	SCKASGYSFT	DYHIHWVRQA	PGQGLEWMGV
INPMYGTDDY	NQRFKGRVTI	TADESTSTAY	MELSSLRSED	TAVYYCARYD
YFTGTGVYWG	QGTLVTVSSA	STKGPSVFPL	APCSRSTSES	TAALGCLVKD
YFPEPVTVSW	NSGALTSGVH	TFPAVLQSSG	LYSLSSVVTV	PSSSLGKTLY
TCNVDHKPSN	TKVDKRVESK	YGPPCPPCPA	PEFLGGPSVF	LFPPKPKDTL
MISRTPEVTC	VVVDVSQEDP	EVQFNWYVDG	VEVHNAKTKP	REEQFNSTYR
VVSVLTVLHQ	DWLNGKEYKC	KVSNKGLPSS	IEKTISKAKG	QPREPQVYTL
PPSQEEMTKN	QVSLTCLVKG	FYPSDIAVEW	ESNGQPENNY	KTTTPVLDS

GSFFLYSRLT VDKSRWQEGN VFSCSVMEHA LHNHYTQKSL SLSLG

ЛІСТИНГ ПОСЛІДОВНОСТЕЙ

<110> Eli Lilly and Company

<120> КОМПОЗИЦІЯ НА ОСНОВІ АНТИ-IL-17-АНТИТІЛ

<130> X19157

<150> 61/607671

<151> 2012-03-07

<160> 5

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 155

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 1

```

Met Thr Pro Gly Lys Thr Ser Leu Val Ser Leu Leu Leu Leu Leu Ser
1      5      10      15

Leu Glu Ala Ile Val Lys Ala Gly Ile Thr Ile Pro Arg Asn Pro Gly
20      25      30

Cys Pro Asn Ser Glu Asp Lys Asn Phe Pro Arg Thr Val Met Val Asn
35      40      45

Leu Asn Ile His Asn Arg Asn Thr Asn Thr Asn Pro Lys Arg Ser Ser
50      55      60

Asp Tyr Tyr Asn Arg Ser Thr Ser Pro Trp Asn Leu His Arg Asn Glu
65      70      75      80

Asp Pro Glu Arg Tyr Pro Ser Val Ile Trp Glu Ala Lys Cys Arg His
85      90      95

Leu Gly Cys Ile Asn Ala Asp Gly Asn Val Asp Tyr His Met Asn Ser
100     105     110

Val Pro Ile Gln Gln Glu Ile Leu Val Leu Arg Arg Glu Pro Pro His
115     120     125

Cys Pro Asn Ser Phe Arg Leu Glu Lys Ile Leu Val Ser Val Gly Cys
130     135     140

Thr Cys Val Thr Pro Ile Val His His Val Ala
145     150     155

```

<210> 2

<211> 112

<212> PRT

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> синтетична генно-інженерна конструкція

<400> 2

```

Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Ser Val Thr Pro Gly
1           5           10           15
Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Arg Ser Leu Val His Ser
          20           25           30
Arg Gly Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
          35           40           45
Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ile Gly Val Pro
          50           55           60
Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65           70           75           80
Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Ser Gln Ser
          85           90           95
Thr His Leu Pro Phe Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
          100          105          110

```

<210> 3

<211> 119

<212> PRT

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> синтетична генно-інженерна конструкція

<400> 3

```

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1           5           10           15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Asp Tyr
          20           25           30
His Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
          35           40           45
Gly Val Ile Asn Pro Met Tyr Gly Thr Thr Asp Tyr Asn Gln Arg Phe
          50           55           60
Lys Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65           70           75           80
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
          85           90           95

```


Ala Arg Tyr Asp Tyr Phe Thr Gly Thr Gly Val Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 4

<211> 219

<212> PRT

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> синтетична генно-інженерна конструкція

<400> 4

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

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Arg Ser Leu Val His Ser
20 25 30

Arg Gly Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ile Gly Val Pro
50 55 60

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

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Ser Gln Ser
85 90 95

Thr His Leu Pro Phe Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
115 120 125

Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
130 135 140

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
145 150 155 160

Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
165 170 175

Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
180 185 190

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

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 5
<211> 445
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> синтетична генно-інженерна конструкція

<400> 5

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

```

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe
225                               230                235                240

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
                245                250                255

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val
                260                265                270

Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
                275                280                285

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
290                295                300

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
305                310                315                320

Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser
                325                330                335

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
                340                345                350

Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val
                355                360                365

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
370                375                380

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
385                390                395                400

Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
                405                410                415

Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
                420                425                430

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly
                435                440                445

```

ФОРМУЛА ВИНАХОДУ

- 5 1. Фармацевтична композиція, яка містить анти-IL-17-антитіло в концентрації в діапазоні від приблизно 80 мг/мл до приблизно 150 мг/мл, цитратний буфер в концентрації приблизно 20 мМ, хлорид натрію в концентрації приблизно 200 мМ, полісорбат-80 в концентрації в діапазоні від приблизно 0,02 % у відношенні маси до об'єму до приблизно 0,03 % у відношенні маси до об'єму при рівні pH приблизно 5,7, причому анти-IL-17-антитіло являє собою антитіло з легким ланцюгом (LC) і важким ланцюгом (HC), при цьому згаданий LC являє собою амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 4, а згаданий HC являє собою амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 5.
- 10 2. Композиція за п. 1, яка **відрізняється** тим, що згадане анти-IL-17-антитіло являє собою антитіло, яке містить два легкі ланцюги (LC) і два важкі ланцюги (HC), причому кожен із згаданих LC являє собою амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 4, а кожен із згаданих HC являє собою амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 5.
- 15 3. Композиція за будь-яким з пп. 1-2, яка **відрізняється** тим, що концентрація анти-IL-17-антитіла становить приблизно 80 мг/мл.
4. Композиція за будь-яким з пп. 1-3, яка **відрізняється** тим, що концентрація полісорбату-80 становить приблизно 0,03 % у відношенні маси до об'єму.
- 20 5. Композиція за будь-яким з пп. 1-4, яка **відрізняється** тим, що композиція являє собою рідку фармацевтичну композицію на основі анти-IL-17-антитіла.

6. Фармацевтична композиція, яка містить анти-IL-17-антитіло в концентрації приблизно 80 мг/мл, цитратний буфер в концентрації приблизно 20 мМ, хлорид натрію в концентрації приблизно 200 мМ, полісорбат-80 в концентрації приблизно 0,03 % у відношенні маси до об'єму при рівні рН приблизно 5,7, причому це анти-IL-17-антитіло являє собою антитіло, яке містить
5 два легкі ланцюги (LC) і два важкі ланцюги (HC), при цьому кожен із згаданих LC являє собою амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 4, а кожен із згаданих HC являє собою амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 5.
7. Рідка фармацевтична композиція, яка містить анти-IL-17-антитіло в концентрації приблизно 80 мг/мл, цитратний буфер в концентрації приблизно 20 мМ, хлорид натрію в концентрації
10 приблизно 200 мМ, полісорбат-80 в концентрації приблизно 0,03 % у відношенні маси до об'єму при рівні рН приблизно 5,7, причому анти-IL-17-антитіло являє собою антитіло, яке містить два легкі ланцюги (LC) і два важкі ланцюги (HC), при цьому кожен із згаданих LC являє собою амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 4, а кожен із згаданих HC являє собою амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 5.
8. Спосіб лікування ревматоїдного артриту, псоріазу, анкілозуючого спондиліту, псоріатичного
15 артриту або множинної мієломи, який включає введення пацієнту, який цього потребує, ефективної кількості фармацевтичної композиції за будь-яким з пп. 1-7.
9. Фармацевтична композиція за будь-яким з пп. 1-7 для застосування в терапії.
10. Фармацевтична композиція за будь-яким з пп. 1-7 для застосування в лікуванні
20 ревматоїдного артриту, псоріазу, анкілозуючого спондиліту, псоріатичного артриту або множинної мієломи.

Комп'ютерна верстка А. Крулевський

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