

(19)



**Евразийское  
патентное  
ведомство**

(21) **201791422** (13) **A1**

(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ**

(43) Дата публикации заявки  
**2017.10.31**

(51) Int. Cl. *A61K 39/395* (2006.01)  
*C07K 16/24* (2006.01)

(22) Дата подачи заявки  
**2015.12.21**

---

(54) **ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЕ ПРОДУКТЫ И УСТОЙЧИВЫЕ ЖИДКИЕ КОМПОЗИЦИИ  
АНТИТЕЛ К IL-17**

---

(31) **62/095,210**

(32) **2014.12.22**

(33) **US**

(86) **PCT/IB2015/059836**

(87) **WO 2016/103153 2016.06.30**

(71) Заявитель:  
**НОВАРТИС АГ (CH)**

(72) Изобретатель:  
**Йорг Зузанне, Зерно-Шерш Катрин  
(CH)**

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

(57) Раскрытие относится к фармацевтическим продуктам и устойчивым жидким композициям антител к IL-17 и их антигенсвязывающих фрагментов, например AIN457 (секукинумабу), и способам получения таких фармацевтических продуктов и композиций. Раскрытие также относится к применению таких фармацевтических продуктов и жидких композиций (например, как части набора с инструкциями по применению) для лечения различных IL-17-опосредуемых расстройств (например, аутоиммунных расстройств, таких как псориаз, анкилозирующий спондилит, псориатический артрит и ревматоидный артрит).

**A1**

**201791422**

**201791422**

**A1**

## ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

2420-542549EA/018

### **ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЕ ПРОДУКТЫ И УСТОЙЧИВЫЕ ЖИДКИЕ КОМПОЗИЦИИ АНТИТЕЛ К IL-17**

#### ОПИСАНИЕ

#### **РОДСТВЕННЫЕ ЗАЯВКИ**

Настоящая заявка притязает на приоритет предварительной заявки на патент США № 62/095210, поданной 22 декабря 2014, которая полностью включена в настоящее описание в качестве ссылки.

#### **ОБЛАСТЬ ТЕХНИКИ**

Настоящее раскрытие относится к фармацевтическим продуктам, включая устойчивые жидкие фармацевтические композиции антител к IL-17 и их антигенсвязывающих фрагментов, например, AIN457 (секукинумаб), и способам получения таких фармацевтических продуктов и жидких фармацевтических композиций.

#### **ПРЕДПОСЫЛКИ СОЗДАНИЯ ИЗОБРЕТЕНИЯ**

IL-17A является основным лимфокином недавно определенного подмножества воспалительных Т-клеток, которое является основным при некоторых аутоиммунных и воспалительных процессах. Нейтрализация IL-17A предполагается для лечения патофизиологии, лежащей в основе иммуноопосредованного заболевания, и, как следствие, обеспечения облегчения симптомов. Секукинумаб (AIN457) является высокоаффинным полностью человеческим моноклональным антителом, которое ингибирует активность IL-17A, которое оценивается как возможное лечение для пациентов с различными аутоиммунными заболеваниями, например, ревматоидным артритом, анкилозирующим спондилитом, псориатическим артритом, диабетом, астмой, хроническим бляшечным псориазом и рассеянным склерозом. Некоторые исследования фазы II и фазы III показали, что секукинумаб превосходит плацебо при достижении PASI 75 при лечении хронического бляшечного псориаза (например, секукинумаб 3x150 мг и 3x75 мг - оба варианта превосходят плацебо при достижении PASI 75 на 12 неделе (81,5% и 57,1%, соответственно против 9,1%) в исследовании CAIN457A2220. Секукинумаб в

настоящее время используют в глобальных исследованиях фазы III для лечения хронического бляшечного псориаза, и снова показано превосходство над плацебо и недавно также над этанерцептом.

Международная заявка на патент PCT/EP2011/069476 относится к лиофилизированным композициям секукинумаба на основе сахарозы, которые восстанавливают 1 мл воды непосредственно перед применением. Однако в PCT/EP2011/069476 не раскрывается готовый к применению фармацевтический продукт или жидкая фармацевтическая композиция секукинумаба, имеющая длительную устойчивость. Действительно, предельная устойчивость белков в жидких композициях часто не допускает длительного хранения при комнатной температуре или в условиях холодильника. Кроме того, в растворе могут происходить различные физические и химические взаимодействия (агрегация [ковалентная и нековалентная], деамидирование, окисление, клиппинг, изомеризация, денатурирование), ведущие к повышению уровней деградации продукта и/или утрате биоактивности. Коммерческая готовая к применению жидкая композиция антител должна обеспечивать достаточную физическую и химическую устойчивость антител во время транспортировки и обращения для гарантии того, что заявленные дозировка и безопасность являются соответствующими, когда молекулу вводят пациенту. Конкретно приемлемая жидкая композиция антител должна усиливать и минимизировать разрушение белков, в особенности, агрегацию белков, для того, чтобы избежать тяжелых иммуногенных реакций. Кроме того, композиция также должна иметь приемлемую осмоляльность и величину pH для подкожного введения и иметь низкую вязкость как необходимое предварительное условие для изготовления (смешивание, фильтрация, наполнение) и возможности использования шприца. Сбалансирование таких многочисленных требований является затруднительным, делая получение коммерчески ценной водной биофармацевтической композиции технически сомнительным.

Несмотря на технические сложности, описанные выше, авторы успешно разработали новые и благоприятные готовые к применению фармацевтические продукты и жидкие фармацевтические композиции антител к IL-17 и их антигенсвязывающих фрагментов, раскрытые в

настоящем описании, например, секукинумаба.

#### **СУЩНОСТЬ РАСКРЫТИЯ**

Раскрытие относится к фармацевтическим продуктам, которые включают контейнер (например, ручку, шприц, флакон, автоинжектор), имеющий свободное пространство с менее 12% кислорода (например, менее примерно 10% кислорода, менее примерно 8% кислорода, менее примерно 6% кислорода и т.д.) и жидкую композицию, размещенную в контейнере. Жидкая композиция не является восстановленной из лиофилизата, а представляет собой готовую к применению композицию, и вообще включает по меньшей мере одно из раскрытых антител к IL-17 или их антигенсвязывающих фрагментов (например, секукинумаб), буфер, поверхностно-активное вещество, метионин и стабилизатор, а также их субкомбинации. Авторы изобретения определили, что комбинированное применение определенных стабилизаторов с низким уровнем кислорода в свободном пространстве контейнера вносит существенный вклад в длительную устойчивость жидкого фармацевтического продукта и предотвращает окисление антитела к IL-17 (например, секукинумаба), включенного в композицию. Такие жидкие композиции имеют превосходные свойства, например,

после 13 месяцев хранения при 25°C образование агрегатов, измеренное SEC, <3,5% в случае 2,5 мМ метионина, ≤3,0% в случае 5 мМ и ≤2,2% в случае 20 мМ метионина в метионинсодержащих композициях; и

после 13 месяцев хранения при 25°C деградация продуктов согласно ОФ-ВЭЖХ (сумма вариантов перед главным пиком) <39,4% в случае 2,5 мМ, ≤37,8% в случае 5 мМ и ≤34,5% в случае 20 мМ метионина в метионинсодержащих композициях.

Соответственно, в настоящем описании раскрываются фармацевтические продукты, включающие контейнер, имеющий свободное пространство, причем содержание кислорода в свободном пространстве менее примерно 12%, и жидкую композицию, имеющую pH примерно 5,2 - примерно 6,2, размещенную в указанном контейнере, причем указанная композиция включает примерно 20 мг/мл - примерно 175 мг/мл секукинумаба и примерно 2,5 - примерно 20 мМ

L-метионина, причем жидкая фармацевтическая композиция не является восстановленной из лиофилизата.

Также в настоящем описании раскрываются фармацевтические продукты, включающие контейнер, имеющий свободное пространство, причем содержание кислорода в свободном пространстве менее примерно 6%, и жидкую фармацевтическую композицию, размещенную в указанном контейнере, причем указанная композиция включает примерно 25 мг/мл - примерно 150 мг/мл антитела к IL-17, раскрытого в настоящем описании (например, секукинумаба), примерно 10 мМ - примерно 30 мМ гистидина, pH 5,8, примерно 200 мМ - примерно 225 мМ трегалозы, примерно 0,02% полисорбата 80 и примерно 2,5 мМ - примерно 20 мМ метионина, причем жидкая фармацевтическая композиция не является восстановленной из лиофилизата.

Также в настоящем описании раскрываются способы уменьшения окисления секукинумаба, включающие получение жидкой композиции, имеющей pH примерно 5,2 - примерно 6,2, и включающей примерно 25 мг/мл - примерно 150 мг/мл антитела к IL-17, раскрытого в настоящем описании (например, секукинумаба), и примерно 2,5 мМ - примерно 20 мМ метионина, причем указанная жидкая композиция размещена в контейнере, имеющем свободное пространство; и доведение содержания кислорода в свободном пространстве до уровня менее или равного примерно 12%.

Также в настоящем описании раскрываются жидкие фармацевтические композиции, включающие примерно 25 мг/мл - примерно 150 мг/мл антитела к IL-17, раскрытого в настоящем описании (например, секукинумаба), примерно 10 мМ - примерно 30 мМ буфера (например, гистидина), pH 5,8, примерно 200 мМ - примерно 225 мМ стабилизатора (например, трегалозы, примерно 0,02% поверхностно-активного вещества (например, полисорбата 80) и примерно 2,5 мМ - примерно 20 мМ метионина.

Раскрытие также относится к применению таких фармацевтических продуктов и устойчивых жидких композиций для лечения различных IL-17-опосредуемых расстройств (например, аутоиммунных расстройств, таких как псориаз, анкилозирующий спондилит, псориатический артрит и ревматоидный артрит) и

наборам, содержащим такие фармацевтические продукты и устойчивые жидкие композиции.

В последующем описании и прилагаемой формуле изобретения описываются дополнительные композиции, продукты, способы, схемы применения, применения и наборы. Другие особенности, преимущества и аспекты настоящего раскрытия станут очевидны для специалистов в данной области техники из последующего описания и прилагаемой формулы изобретения.

#### **КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ЧЕРТЕЖЕЙ**

**фигура 1 А-Д** показывает влияние различных антиокислительных стабилизаторов на устойчивость жидкости со 150 мг/мл секукиномаба в шприце: параметр оценивает субвидимые частицы 1 мкм в режиме светотени (частицы/мл) через 8 недель при 5°C (А), часть перед главным пиком по ОФ-ВЭЖХ (%) через 8 недель при 25°C (В), DP-SEC (%) через 8 недель при 40°C (С), AP-SEC (%) через 8 недель при 40°C (D).

**фигура 2** показывает влияние концентрации L-метионина на устойчивость раствора 25 мг/мл секукиномаба при хранении при 25°C: часть перед главным пиком по ОФ-ВЭЖХ (%). Серая штриховая линия: подбор прямой для данных 10 мМ L-метионина/содержание кислорода в свободном пространстве 5%; черная штриховая линия: подбор прямой для данных 0 мМ L-метионина/содержание кислорода в свободном пространстве 5%.

**фигура 3** показывает влияние L-метионина, трегалозы и полисорбата 80 на устойчивость жидкости со 150 мг/мл секукиномаба в шприце, хранившейся в течение 6 месяцев при 25°C: часть перед главным пиком по ОФ-ВЭЖХ (%).

**фигура 4, А и В**, показывает влияние концентрации L-метионина на устойчивость жидкости со 150 мг/мл секукиномаба в шприце, хранившейся при 5°C: AP-SEC (%) (А) и часть перед главным пиком по ОФ-ВЭЖХ (%) (В), в присутствии 5 мМ и 0 мМ L-метионина.

**фигура 5** показывает влияние концентрации L-метионина на устойчивость жидкости со 150 мг/мл секукиномаба в шприце через 30 месяцев при 5°C и 13 месяцев при 25°C: AP-SEC (%) (А) и часть перед главным пиком по ОФ-ВЭЖХ (%) (В).

**фигура 6, А и В,** показывает влияние концентрации L-метионина на устойчивость жидкости с 25 мг/мл секукинумаба во флаконе (содержание кислорода в свободном пространстве 10%) после 3 месяцев хранения при 40°C по AP-SEC (%) (А) и сумму примесей по CE-SDS (в невозстанавливаемых условиях) (%) (В).

**фигура 7** показывает влияние содержания кислорода в свободном пространстве на жидкость со 150 мг/мл секукинумаба в шприце, хранившейся при 25°C: AP-SEC (%).

**фигура 8, А-D,** показывает влияние содержания кислорода в свободном пространстве и заполненного объема на AP-SEC (%) в жидкости со 150 мг/мл секукинумаба в шприце после хранения при 25°C (А, В) и 5°C (С, D). Заполненный объем для А и С составляет 0,5 мл. Заполненный объем для В и D составляет 1,0 мл.

**фигура 9** показывает влияние содержания кислорода в свободном пространстве и заполненного объема на устойчивость жидкости со 150 мг/мл секукинумаба в шприце через 6 месяцев при 5°C и 25°C: чистота по ОФ-ВЭЖХ.

**фигура 10** показывает влияние концентрации L-метионина и содержания кислорода в свободном пространстве на устойчивость жидкости со 150 мг/мл секукинумаба в шприце через 6 месяцев хранения при 25°C (А): AP-SEC (%).

**фигура 11** показывает влияние продувки азотом и концентрации L-метионина на устойчивость жидкости со 150 мг/мл секукинумаба в шприце: часть перед главным пиком по ОФ-ВЭЖХ (%).

**фигура 12, А и В,** показывает влияние pH на устойчивость жидкости со 150 мг/мл секукинумаба в шприце после 4 недель хранения при 40°C (А): оценки по шкале/2 (влияние повышения pH на 0,3 единицы) на устойчивость части перед главным пиком по ОФ-ВЭЖХ (изменение, %) (А) и AP-SEC (изменение, %) (В).

**фигура 13, А-D,** показывает влияние pH на устойчивость жидкости со 150 мг/мл секукинумаба в шприце после хранения при 5°C: мутность (NTU) (А), чистота по SEC (%) (В); кислотные варианты по СЕХ (%) (С), AP-SEC (%) (D).

**фигура 14** показывает влияние стабилизатора на устойчивость жидкости со 150 мг/мл секукинумаба в шприце после 8 недель

хранения при 25°C: параметр оценивает AP-SEC.

**Фигура 15** показывает влияние поверхностно-активного вещества на устойчивость жидкости со 150 мг/мл секукинумаба в шприце после встряхивания. Параметр оценивает субвидимые частицы  $\geq 1$  мкм в режиме светотени (частицы/мл).

**Фигура 16, A-D**, показывает влияние типа буфера на устойчивость жидкости со 150 мг/мл секукинумаба в шприце: параметр оценивает AP-SEC (%) после стресса замораживание-оттаивание (A), AP-SEC (%) после напряжения при встряхивании (B), часть перед главным пиком по ОФ-ВЭЖХ (%) после 8 недель хранения при 25°C (C), DP-SEC (%) после напряжения при встряхивании (D).

#### ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ РАСКРЫТИЯ

Термин «включающий» охватывает «включающий в себя», а также «состоящий из», например, композиция, «включающая» X, может состоять исключительно из X или может включать в себя что-то дополнительное, например, X+Y.

Термин «примерно» в отношении числовой величины x означает +/- 10%, если контекст не предписывает иное.

Термином «ежемесячно» обозначаются примерно каждые 4 недели (например, каждые 4 недели), которые составляют примерно каждые 28 дней (например, каждые 28 дней).

Термин «антитело» при упоминании в настоящем описании включает целые антитела и любой антигенсвязывающий фрагмент или их отдельные цепи. Встречающееся в природе «антитело» представляет собой гликопротеин, включающий по меньшей мере две тяжелые (H) и две легкие (L) цепи, взаимосвязанные дисульфидными мостиками. Каждая тяжелая цепь включает переменный участок тяжелой цепи (в настоящем описании сокращенно  $V_H$ ) и константный участок тяжелой цепи. Константный участок тяжелой цепи состоит из трех доменов CH1, CH2 и CH3. Каждая легкая цепь включает переменный участок легкой цепи (в настоящем описании сокращенно  $V_L$ ) и константный участок легкой цепи. Константный участок легкой цепи состоит из одного домена CL. Участки  $V_H$  и  $V_L$  могут быть дополнительно подразделены на участки

гипервариабельности, называемые гипервариабельными участками или определяющими комплементарность участками (CDR), перемежающиеся с участками, которые являются более консервативными, называемыми каркасными участками (FR). Каждый  $V_H$  и  $V_L$  состоит из трех CDR и четырех FR, расположенных от аминоконца к карбоксиконцу в следующем порядке: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4. Вариабельные участки тяжелой и легкой цепей содержат связывающий домен, который взаимодействует с антигеном. Константные участки антител могут опосредовать связывание иммуноглобулина с тканями реципиента или факторами, включая различные клетки иммунной системы (например, эффекторные клетки) и первый компонент (C1q) классической системы комплемента. В некоторых воплощениях раскрытых способов, схем, наборов, процессов, применений и композиций используют антитело к IL-17 или рецептору IL-17, предпочтительно, антитело к IL-17, например, секукинумаб.

Термин «изолированное антитело», используемый в настоящем описании, относится к антителу, которое по существу свободно от других антител, имеющих другую антигенную специфичность (например, изолированное антитело, которое специфически связывает IL-17, по существу свободно от антител, которые специфически связывают другие антигены иные, чем IL-17). Термины «моноклональное антитело» или «композиция моноклональных антител», используемые в настоящем описании, относятся к препарату молекул антител одного молекулярного состава. Термин «человеческое антитело», используемый в настоящем описании, предназначен для включения антител, имеющих вариабельные участки, в которых как каркасный, так и CDR участки происходят от последовательностей человеческого происхождения. «Человеческое антитело» необязательно продуцируется человеком, человеческой тканью или человеческой клеткой. Человеческие антитела по раскрытию могут включать аминокислотные остатки, некодированные человеческими последовательностями (например, мутации, введенные неспецифическим или сайтнаправленным мутагенезом *in vitro*, присоединением N-нуклеотида по стыкам *in vitro* во время рекомбинации генов антитела или путем соматической мутации *in vivo*). В некоторых воплощениях раскрытых

способов, схем, наборов, процессов, применений и композиций антитело к IL-17 представляет собой человеческое антитело, изолированное антитело и/или моноклональное антитело.

Термин «антигенсвязывающий фрагмент» антитела, используемый в настоящем описании, относится к фрагментам антитела, которые сохраняют способность специфически связываться с антигеном (например, IL-17). Показано, что антигенсвязывающая функция может выполняться фрагментами полноразмерного антитела. Примеры связывающих фрагментов, охватываемых термином «антигенсвязывающий фрагмент» антитела, включают фрагмент Fab, одновалентный фрагмент, состоящий из доменов  $V_L$ ,  $V_H$ ,  $CL$  и  $CH1$ ; фрагмент  $F(ab)_2$ , двухвалентный фрагмент, состоящий из двух фрагментов Fab, соединенных дисульфидным мостиком в шарнирном участке; фрагмент Fd, состоящий из  $V_H$  и доменов  $CH1$ ; фрагмент Fv, состоящий из доменов  $V_L$  и  $V_H$  одного плеча антитела; фрагмент dAb (Ward et al., 1989, Nature, 341: 541-546), который состоит из домена  $V_H$ ; и изолированный CDR. Примеры антигенсвязывающих сайтов включают CDR секукинумаба, указанные в SEQ ID NO: 1-6 и 11-13 (таблица 1), предпочтительно, CDR3 тяжелой цепи. Кроме того, хотя два домена фрагмента Fv  $V_L$  и  $V_H$  кодированы отдельными генами, их можно соединить с использованием рекомбинантных методов синтетическим линкером, который позволяет им образовать одну белковую цепь, в которой пара участков  $V_L$  и  $V_H$  образует одновалентные молекулы (известные как одноцепочечные Fv (scFv); см., например, Bird et al., 1988, Science, 242: 423-426; и Huston et al., 1988, Proc. Natl. Acad. Sci., 85: 5879-5883). Предполагается, что такие одноцепочечные антитела также охватываются термином «антитело». Одноцепочечные антитела и антигенсвязывающие фрагменты получают с использованием обычных методов, известных специалистам в данной области техники. В некоторых воплощениях раскрытых способов, схем, наборов, процессов, применений и композиций используют одноцепочечное антитело или антигенсвязывающий фрагмент антитела против IL-17 (например, секукинумаб) или рецептора IL-17.

Термин «фармацевтический продукт» обозначает контейнер (например, ручку, шприц, мешок, насос и т.д.), с

фармацевтической композицией, размещенной внутри указанного контейнера. «Контейнером» обозначают любое средство для содержания жидкой фармацевтической композиции, например, ручку, шприц, флакон, автоинжектор, пэтч и т.д.. Каждый контейнер имеет «свободное пространство», т.е., область в контейнере, которая не содержит жидкую фармацевтическую композицию. Такое свободное пространство содержит газ, например, смесь кислорода и других газов, обычно присутствующих в воздухе. Уровень кислорода в свободном пространстве можно регулировать, например, путем введения инертного газа (например, азота, аргона и т.д.) в свободное пространство вместо кислорода. Этого можно достичь активно, например, путем продувки, или пассивно, например, помещая контейнер в систему и удаляя кислород (например, в вакууме, и т.д.). Продувка, например, с использованием инертного газа, предпочтительно азота, может происходить перед загрузкой композиции в контейнер, во время заполнения или перед и во время установки пробки. Используемый в настоящем описании термин «содержание кислорода в свободном пространстве» относится к процентному содержанию кислорода, находящегося в свободном пространстве данного контейнера.

«Устойчивая» композиция представляет собой композицию, в которой белок по существу сохраняет свою устойчивость (например, физическую, химическую и/или биологическую активность) после хранения. В технике доступны различные аналитические методы измерения устойчивости белков, и их обзор приводится в Peptide and Protein Drug Delivery, 247-301, Vincent Lee Ed., Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., Pubs. (1991), и Jones A., Adv. Drug Delivery Rev., 10:29-90 (1993). Устойчивость можно измерить при выбранной температуре для выбранного периода времени. «Устойчивая» жидкая композиция антител представляет собой жидкую композицию антител с отсутствием существенных изменений, наблюдаемых при температуре хранения в холодильнике (2-8°C) в течение по меньшей мере 6 месяцев, 12 месяцев, предпочтительно 2 лет и предпочтительнее 3 лет; или при комнатной температуре (23-27°C) в течение по меньшей мере 3 месяцев, предпочтительно 6

месяцев и предпочтительнее 1 года; или в жестких условиях ( $\sim 40^{\circ}\text{C}$ ) в течение по меньшей мере 1 месяца, предпочтительно 3 месяцев и предпочтительнее 6 месяцев. Можно использовать различные критерии устойчивости, например, разложение не более 10%, предпочтительно 5% мономера антитела (например, при измерении чистоты по SEC, чистоты по ОФ-ВЭЖХ, чистоты по СЕХ, чистоты по СЕ-SDS (в невозстановливающих условиях) и т.д.). С другой стороны, устойчивость можно установить, если раствор остается прозрачным или слегка опалесцирующим при визуальном анализе или используя нефелометрию. С другой стороны, устойчивость можно установить, если концентрация, рН и осмоляльность композиции имеют не более  $\pm 10\%$  вариацию в течение заданного периода времени, например, по меньшей мере 3 месяцев, предпочтительно 6 месяцев и предпочтительнее 1 года. С другой стороны, устойчивость можно установить, если эффективность (например, измеренная по биологической активности при ингибировании или СЕХ анализе и т.д.) находится в пределах 70-130% (например, составляет по меньшей мере 70%, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 76%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 95%), предпочтительно 80-120% от контроля в течение заданного периода времени, например, по меньшей мере 3 месяцев, предпочтительно 6 месяцев и предпочтительнее 1 года. С другой стороны, устойчивость можно установить, если наблюдают не более 10%, предпочтительно 5% клиппинга антитела (например, при измерении DP-SDS, и т.д.) в течение заданного периода времени, например, по меньшей мере 3 месяцев, предпочтительно 6 месяцев и предпочтительнее 1 года. С другой стороны, устойчивость можно установить, если образуется не более 10%, предпочтительно 5% агрегатов (например, при измерении AP-SEC, и т.д.) в течение заданного периода времени, например, по меньшей мере 3 месяцев, предпочтительно 6 месяцев и предпочтительнее 1 года. С другой стороны, устойчивость можно установить, если после 13 месяцев хранения при  $25^{\circ}\text{C}$  образование агрегатов при измерении SEC составляет  $\leq$  примерно 3,5%,  $\leq$  примерно 3,0% или  $\leq$  примерно 2,2%. С другой стороны, устойчивость можно

установить, если после 13 месяцев хранения при 25°C образование продуктов разложения (при измерении ОФ-ВЭЖХ (вид перед главным пиком)) составляет ≤примерно 39,4%, ≤примерно 37,8% или ≤примерно 34,5%.

Антитело сохраняет свою физическую устойчивость в фармацевтической композиции, если не наблюдают существенного увеличения агрегации, осаждения и/или денатурации после визуальной проверки цвета и/или прозрачности (мутности) или при измерении рассеяния УФ-света, эксклюзионной хроматографией (SEC) и динамического рассеяния света (DLS). Кроме того, не должна существенно изменяться конформация белка, например, при оценке флуоресцентной спектроскопией (определяет третичную структуру белка) или FTIR-спектроскопией (определяет вторичную структуру белка).

Антитело сохраняет свою химическую устойчивость в фармацевтической композиции, если не наблюдают существенного химического изменения. Химическую устойчивость можно оценить путем детекции и количественной оценки химически измененных форм белка. Процессы разложения, которые обычно изменяют химическую структуру белка, включают гидролиз или клиппинг (оценивают такими методами, как эксклюзионная хроматография [SEC] и SDS-PAGE), окисление (оценивают такими методами, как картирование пептидов в сочетании с масс-спектрометрией или MALDI/TOF/MS), деамидирование (оценивают такими методами, как катионообменная хроматография (CEX), капиллярное изоэлектрическое фокусирование, картирование пептидов, определение изоаспарагиновой кислоты) и изомеризация (оценивают такими методами, как измерение содержания изоаспарагиновой кислоты, картирование пептидов и т.д.).

Антитело сохраняет свою биологическую активность в фармацевтической композиции, если биологическая активность белка/антитела в заданное время находится в предварительно установленном интервале биологической активности, представленной на момент изготовления фармацевтической композиции. Биологическую активность антитела можно определить, например,

анализом связывания антигена ELISA, анализом эффективности (например, оценивая способность антитела к IL-17 (например, секукиномаба) связывать IL-17 и ингибировать высвобождение IL-17 из хондроцитов) или дериватизацией цистеамина по СЕХ.

Используемый в настоящем описании термин «чистота по ОФ-ВЭЖХ» относится к процентному содержанию главного пика согласно ОФ-ВЭЖХ и может быть использован для оценки устойчивости секукиномаба. ОФ-ВЭЖХ используют для разделения секукиномаба и его вариантов согласно их гидрофобности. Часть перед главным пиком ОФ-ВЭЖХ представляет собой сумму, в процентах, пиков элюирования перед главным пиком, которые могут содержать фрагментированные, изомеризованные и окисленные виды антитела.

Используемый в настоящем описании термин «чистота по СЕХ» относится к проценту главного пика согласно СЕХ и может быть использован для оценки устойчивости антитела секукиномаба. СЕХ используют для оценки гетерогенности заряда секукиномаба путем измерения процента кислотных и щелочных вариантов.

Используемый в настоящем описании термин «чистота по SEC» относится к проценту мономера при SEC и может быть использован для оценки устойчивости секукиномаба. SEC используют для отделения мономерного секукиномаба от агрегатов и фрагментов согласно их размеру в условиях отсутствия денатурации. Сумму пиков элюирования перед главным пиком приводят как процент продуктов агрегации (AP-SEC), сумму пиков элюирования после главного пика приводят как процент продуктов разложения (DP-SEC).

Используемый в настоящем описании термин «чистота по CE-SDS» относится к проценту интактного антитела согласно CE-SDS и может быть использован для оценки устойчивости секукиномаба. CE-SDS используют для отделения побочных продуктов и продуктов разложения от интактного секукиномаба согласно их молекулярному размеру в невозстановливающих условиях. Сумму пиков, отделенных от главного пика, приводят как процент примесей.

Словосочетание «жидкая фармацевтическая композиция», используемое в настоящем описании, относится к водной композиции, которая не является восстановленной из лиофилизата,

и которая содержит по меньшей мере одно антитело к IL-17 или его антигенсвязывающий фрагмент (например, секукинумаб) и по меньшей мере один дополнительный эксципиент (например, буфер). Жидкая фармацевтическая композиция может включать дополнительные эксципиенты (стабилизаторы, поверхностно-активные вещества) и дополнительные активные ингредиенты. Такой тип препарата также называют препаратом, «готовым к применению».

Используемый в настоящем описании термин «лиофилизат» относится к высушенным (например, высушенным вымораживанием) фармацевтическим композициям, в значительной степени лишенным воды. Методы лиофилизации антител хорошо известны в технике, см., например, Rey & May (2004), Freeze-Drying/Lyophilization of Pharmaceutical & Biological Products, ISBN 0824748689. Лиофилизаты восстанавливают для получения водных композиций, как правило, для немедленного применения (например, в течение 1-10 дней), так как восстановленные лиофилизаты имеют склонность к ограниченному сроку годности.

Термин «высокая концентрация» относится к композиции, содержащей больше 50 мг/мл антитела или его антигенсвязывающего фрагмента. В предпочтительных воплощениях жидкая композиция высокой концентрации содержит  $\geq$  примерно 50 мг/мл,  $\geq$  примерно 75 мг/мл,  $\geq$  примерно 100 мг/мл,  $\geq$  примерно 125 мг/мл,  $\geq$  примерно 150 мг/мл,  $\geq$  примерно 175 мг/мл,  $\geq$  примерно 200 мг/мл или  $\geq$  примерно 225 мг/мл антитела или его антигенсвязывающего фрагмента.

Термин «IL-17» относится к IL-17A, прежде известному как STLA8, и включает IL-17A дикого типа от различных видов (например, человека, мыши и обезьяны), полиморфные варианты IL-17A и функциональные эквиваленты IL-17A. Функциональные эквиваленты IL-17A согласно настоящему раскрытию предпочтительно имеют по меньшей мере примерно 65%, 75%, 85%, 95%, 96%, 97%, 98% или даже 99% общую идентичность последовательностей с IL-17A дикого типа (например, IL-17A человека) и по существу сохраняют способность индуцировать продуцирование IL-6 дермальными фибробластами человека.

Предполагается, что термин «K<sub>D</sub>» относится к степени

диссоциации взаимодействия определенное антитело-антиген. Предполагается, что термин « $K_D$ », используемый в настоящем описании, относится к константе диссоциации, которую получают из отношения  $K_d$  к  $K_a$  (т.е.,  $K_d/K_a$ ) и выражают в виде молярной концентрации (М). Величины  $K_D$  для антител можно определить способами, хорошо установленными в технике. Способом определения  $K_D$  антитела является использование поверхностного плазмонного резонанса или использование биосенсорной системы, такой как система Biacore®. В некоторых воплощениях антитело к IL-17 или его антигенсвязывающий фрагмент связывает человеческий IL-17 с  $K_D$  примерно 100-259 пМ (при измерении с помощью Biacore®).

Термин «аффинность» относится к силе взаимодействия между антителом и антигеном в отдельных антигенных сайтах. В пределах каждого антигенного сайта переменный участок «плеча» антитела взаимодействует через слабые нековалентные силы с антигеном во многих сайтах; чем сильнее взаимодействия, тем больше аффинность. В технике известны стандартные анализы для оценки аффинности связывания антител с IL-17 различных видов, включая, например, ELISA, вестерн-блоттинг и RIA. Кинетику связывания (например, аффинность связывания) антител также можно оценить стандартными анализами, известными в технике, такими как анализ Biacore®.

Используемые в настоящем описании термины «субъект» и «пациент» включают любого человека или любое животное, не являющееся человеком. Термин «животное, не являющееся человеком» включает всех позвоночных, например, млекопитающих и немлекопитающих, таких как приматы, не являющиеся людьми, овца, собаки, кошки, лошади, коровы, куры, амфибии, рептилии и т.д.

Антитело, которое «ингибирует» одно или несколько таких функциональных свойств IL-17 (например, биохимическую, иммунохимическую, клеточную, физиологическую или другую биологическую активность или подобное) по определению согласно методологиям, известным в технике и описанным в настоящем описании, следует понимать как связанное со статистически значимым снижением определенной активности относительно

активности, наблюдаемой в отсутствие антитела (или когда присутствует контрольное антитело с иррелевантной специфичностью). Антитело, которое ингибирует активность IL-17, вызывает статистически значимое снижение активности, например, по меньшей мере на примерно 10% измеряемого параметра, по меньшей мере на 50%, 80% или 90%, и в некоторых воплощениях раскрытых способов, применений, процессов, наборов и композиций используемое антитело к IL-17 может ингибировать свыше 95%, 98% или 99% функциональной активности IL-17.

«Ингибирование IL-6» при использовании в настоящем описании относится к способности антитела к IL-17 (например, секукиномаба) снижать получение IL-6 из хондроцитов. Биологическую активность антитела к IL-17 или его антигенсвязывающего фрагмента, например, секукиномаба, можно измерить, основываясь на его способности ингибировать индуцируемое IL-17 высвобождение IL-6 из иммортализованной клеточной линии хондроцитов человека, например, C-20/A4. Коротко, в первый день анализа клетки C-20/A4 высевают в 96-луночные планшеты, оставляют для присоединения и затем инкубируют в течение ночи в присутствии фиксированной сверхмаксимальной концентрации IL-17 (например, примерно 20-200 нг/мл, например, примерно 80 нг/мл, в культуральной среде) и различных концентраций антитела (например, примерно 0,01 мкг/мл - примерно 4 мкг/мл, например, примерно 0,5 мкг/мл - примерно 2 мкг/мл, в аналитическом планшете). Включают TNF-альфа, который облегчает получение IL-6, индуцируемое IL-17 (например, примерно 0,01 нг/мл - примерно 1 нг/мл, например, примерно 0,5 нг/мл в культуральной среде), для расширения динамического интервала анализа. На второй день определяют количественно ELISA концентрацию IL-6 в клеточных супернатантах. Количество IL-6 в клеточных супернатантах обратно пропорционально активности антитела к IL-17, присутствующего в образце. Биологическую активность испытываемого образца антитела определяют количественно путем сравнения способности ингибировать IL-17-зависимое высвобождение IL-6 с такой способностью эталонного антитела. Образцы и эталон нормализуют на основании содержания

белка. Относительную эффективность высвобождения вычисляют с использованием параллельного линейного анализа согласно Европейской фармакопеи. Конечные результаты выражают в виде относительной эффективности (в процентах) образца по сравнению с эталоном.

Термин «производное», если не указано иное, используют для определения вариантов аминокислотной последовательности и ковалентных модификаций (например, при пегилировании, деаминировании, гидроксिलировании, фосфорилировании, метилировании и т.д.) антитела к IL-17 или его антигенсвязывающего фрагмента, например, секукиномаба, согласно настоящему раскрытию, например, обусловленной последовательности (например, вариабельного домена). «Функциональное производное» включает молекулу, имеющую количественную биологическую активность, общую с раскрытыми антителами к IL-17 или их антигенсвязывающими фрагментами. Функциональное производное включает фрагменты и пептидные аналоги антитела к IL-17 или его антигенсвязывающего фрагмента, раскрытых в настоящем описании. Фрагменты включают участки в пределах последовательности полипептида по настоящему раскрытию, например, обусловленной последовательности. Функциональные производные антител к IL-17 или их антигенсвязывающих фрагментов, раскрытые в настоящем описании (например, функциональные производные секукиномаба), предпочтительно включают  $V_H$  и/или  $V_L$  домены, которые имеют по меньшей мере примерно 65%, 75%, 85%, 95%, 96%, 97%, 98% или даже 99% общую идентичность с  $V_H$  и/или  $V_L$  последовательностями связывающих IL-17 молекул, раскрытых в настоящем описании (например, последовательностями  $V_H$  и/или  $V_L$  из **таблицы 1**), и по существу сохраняют способность связывать IL-17 человека или, например, ингибировать образование IL-6 индуцируемыми IL-17 дермальными фибробластами человека.

Словосочетание «по существу идентичный» означает, что соответствующая аминокислотная или нуклеотидная последовательность (например, домен  $V_H$  или  $V_L$ ) будет идентична или иметь несущественные отличия (например, через консервативные замены аминокислот) в сравнении с определенной эталонной

последовательностью. Несущественные отличия включают незначительные аминокислотные замены, такие как 1 или 2 замены в 5 аминокислотной последовательности обусловленного участка (например, домена  $V_H$  или  $V_L$ ). В случае антител второе антитело имеет такую же специфичность и имеет по меньшей мере на 50% такую же аффинность. Последовательности по существу идентичные (например, с по меньшей мере 85% идентичностью последовательностей) последовательностям, раскрытым в настоящем описании, также являются частью настоящей заявки. В некоторых воплощениях идентичность последовательностей производного антитела к IL-17 (например, производного секукиномаба, например, антитела, биологически подобного секукиномабу) может составлять примерно 90% или больше, например, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или больше, относительно раскрытых последовательностей.

«Идентичность» в отношении нативного полипептида и его функционального производного определяется в настоящем описании как процент аминокислотных остатков в последовательности-кандидате, которые являются идентичными с остатками соответствующего нативного полипептида, после выравнивания последовательностей и введения брешей, при необходимости, для достижения максимальной процентной идентичности и без рассмотрения консервативных замен как части идентичности последовательностей. Ни наращивания по N- или C-концам, ни вставки не должны истолковываться как уменьшающие идентичность. Методы и компьютерные программы для выравнивания хорошо известны. Процентную идентичность можно определить с помощью стандартных алгоритмов выравнивания, например, Basic Local Alignment Search Tool (BLAST), описанного Altshul et al. ((1990) J. Mol. Biol., 215: 403-410); алгоритмов Needleman et al. ((1970) J. Mol. Biol., 48: 444-453); или алгоритма Meyers et al. ((1988) Comput. Appl. Biosci., 4: 11-17). Набор параметров может представлять собой матрицу для подсчета Blosum 62 со штрафом за брешь 12, со штрафом за удлинение бреши 4 и со штрафом за сдвиг рамки бреши 5. Процентную идентичность между двумя аминокислотными или нуклеотидными последовательностями также

можно определить с использованием алгоритма E. Meyers and W. Miller ((1989), CABIOS, 4:11-17), который включен в программу ALIGN (версия 2.0), с использованием таблицы весов замен остатков PAM120, штрафа за удлинение бреша 12 и штрафа за брешь 4.

Термин «аминокислота(ы)» относится ко всем встречающимся в природе L- $\alpha$ -аминокислотам, например, и включает D-аминокислоты. Словосочетание «вариант аминокислотной последовательности» относится к молекулам с некоторыми отличиями в их аминокислотных последовательностях по сравнению с последовательностями по настоящему раскрытию. Варианты аминокислотной последовательности полипептида по настоящему раскрытию, например, обусловленной последовательности, еще имеют способность связывать IL-17 человека или, например, ингибировать образование IL-6, вызываемое IL-17 в дермальных фибробластах человека. Варианты аминокислотной последовательности включают варианты с заменой (варианты, которые имеют по меньшей мере один удаленный аминокислотный остаток и другую аминокислоту, встроенную на его место в той же позиции в полипептиде по настоящему раскрытию), варианты со вставкой (варианты с одной или несколькими аминокислотами, встроенными непосредственно рядом с аминокислотой в определенной позиции в полипептиде по настоящему раскрытию) и делеционные варианты (варианты с одной или несколькими удаленными аминокислотами в полипептиде по настоящему раскрытию).

Термин «фармацевтически приемлемый» обозначает нетоксичный материал, который не влияет на эффективность биологической активности активного(ых) ингредиента(ов).

Термин «введение» в отношении соединения, например, молекулы, связывающей IL-17, или другого агента, используют в связи с доставкой такого соединения пациенту любым путем.

Используемое в настоящем описании словосочетание «терапевтически эффективное количество» относится к количеству антитела к IL-17 или его антигенсвязывающего фрагмента, например, секукинумаба, которое является эффективным после

введения одной или нескольких доз пациенту (такому как человек) для лечения, предупреждения, предотвращения начала, излечения, отсрочки, уменьшения тяжести, облегчения по меньшей мере одного симптома расстройства или рецидивирующего расстройства или пролонгирования продолжительности существования пациента дольше ожидаемого в отсутствие такого лечения. При применении к отдельному активному ингредиенту (например, антителу к IL-17, например, секукиумабу), вводимому одному, термин относится к такому отдельному ингредиенту. При применении к комбинации термин относится к объединенным количествам активных ингредиентов, которые приводят к терапевтическому эффекту, вводятся ли они в комбинации, периодически или одновременно.

Термин «лечение» или «лечить» относится как к профилактическому или превентивному, так и к куративному или модифицирующему заболевание лечению, включая лечение пациента в опасности приобретения заболевания или при подозрении в приобретении заболевания, а также пациентов, которые болеют или которым поставлен диагноз как страдающим от заболевания или болезненного состояния, и включает подавление клинического рецидива. Лечение может назначаться пациенту, имеющему болезненное расстройство, или который в конечном счете может приобрести расстройство, для того, чтобы предотвратить, вылечить, отсрочить начало, уменьшить тяжесть или облегчить один или несколько симптомов расстройства или рецидивирующего расстройства, или для того, чтобы пролонгировать продолжительность существования пациента дольше ожидаемого в отсутствие такого лечения.

Словосочетание «средства введения» используют для указания на доступный инструмент введения лекарственного средства пациенту, включая, но не ограничиваясь перечисленным, предварительно заполняемый шприц, флакон и шприц, ручку-инжектор, автоинжектор, i.v. капельницу и мешок, насос, пэтч-насос и т.д.. С такими предметами пациент может сам вводить лекарственное средство (т.е., вводить лекарственное средство самостоятельно), или лекарственное средство может вводить врач. Типично дозировки, заданные в «мг/кг», вводят i.v. путем, и

дозировки, заданные в «мг», вводят i.m. или s.c. инъекциями. В некоторых воплощениях раскрытых способов, наборов, схем и применений антитело к IL-17 или его антигенсвязывающий фрагмент, например, секукинумаб, доставляют пациенту i.v. путем. В некоторых воплощениях раскрытых способов, наборов, схем и применений антитело к IL-17 или его антигенсвязывающий фрагмент, например, секукинумаб, доставляют пациенту s.c. путем.

#### **Антитела к IL-17 и их антигенсвязывающие фрагменты**

Раскрытые фармацевтические продукты, композиции, жидкие композиции, схемы, процессы, применения, способы и наборы содержат или используют антитело к IL-17 или его антигенсвязывающий фрагмент.

В одном воплощении антитело к IL-17 или его антигенсвязывающий фрагмент, например, секукинумаб, включает по меньшей мере один переменный домен тяжелой цепи иммуноглобулина ( $V_H$ ), включающий гиперпеременные участки CDR1, CDR2 и CDR3, причем указанный CDR1 имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1, указанный CDR2 имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 2, и указанный CDR3 имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 3. В одном воплощении антитело к IL-17 или его антигенсвязывающий фрагмент, например, секукинумаб, включает по меньшей мере один переменный домен легкой цепи иммуноглобулина ( $V_L$ ), включающий гиперпеременные участки CDR1', CDR2' и CDR3', причем указанный CDR1' имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 4, указанный CDR2' имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 5, и указанный CDR3' имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 6. В одном воплощении антитело к IL-17 или его антигенсвязывающий фрагмент, например, секукинумаб, включает по меньшей мере один переменный домен тяжелой цепи иммуноглобулина ( $V_H$ ), включающий гиперпеременные участки CDR1-x, CDR2-x и CDR3-x, причем указанный CDR1-x имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 11, указанный CDR2-x имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 12, и указанный CDR3-x имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 13.

В одном воплощении антитело к IL-17 или его антигенсвязывающий фрагмент, например, секукинумаб, включает по меньшей мере один  $V_H$  домен иммуноглобулина и по меньшей мере один  $V_L$  домен иммуноглобулина, причем а)  $V_H$  домен иммуноглобулина включает (например, по порядку) i) гипервариабельные участки CDR1, CDR2 и CGR3, причем указанный CDR1 имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1, указанный CDR2 имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 2, и указанный CDR3 имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 3; или ii) гипервариабельные участки CDR1-х, CDR2-х и CGR3-х, причем указанный CDR1-х имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 11, указанный CDR2-х имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 12, и указанный CDR3-х имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 13; и б) домен  $V_L$  иммуноглобулина включает (например, по порядку) гипервариабельные участки CDR1', CDR2' и CGR3', причем указанный CDR1' имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 4, указанный CDR2' имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 5, и указанный CDR3' имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 6.

В одном воплощении антитело к IL-17 или его антигенсвязывающий фрагмент, например, секукинумаб, включает а) вариабельный домен тяжелой цепи иммуноглобулина ( $V_H$ ), включающий аминокислотную последовательность, представленную как SEQ ID NO: 8; б) вариабельный домен легкой цепи иммуноглобулина ( $V_L$ ), включающий аминокислотную последовательность, представленную как SEQ ID NO: 10; в) домен  $V_H$  иммуноглобулина, включающий аминокислотную последовательность, представленную как SEQ ID NO: 8, и домен  $V_L$  иммуноглобулина, включающий аминокислотную последовательность, представленную как SEQ ID NO: 10; д) домен  $V_H$  иммуноглобулина, включающий гипервариабельные участки, представленные как SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2 и SEQ ID NO: 3; е) домен  $V_L$  иммуноглобулина, включающий гипервариабельные участки, представленные как SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5 и SEQ ID NO: 6; ф) домен  $V_H$  иммуноглобулина, включающий гипервариабельные участки, представленные как SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 12 и SEQ ID NO: 13;

г) домен  $V_H$  иммуноглобулина, включающий гипервариабельные участки, представленные как SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2 и SEQ ID NO: 3, и домен  $V_L$  иммуноглобулина, включающий гипервариабельные участки, представленные как SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5 и SEQ ID NO: 6; или h) домен  $V_H$  иммуноглобулина, включающий гипервариабельные участки, представленные как SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 12 и SEQ ID NO: 13, и домен  $V_L$  иммуноглобулина, включающий гипервариабельные участки, представленные как SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5 и SEQ ID NO: 6.

Для облегчения обращения к аминокислотным последовательностям гипервариабельных участков моноклонального антитела секукиномаба ниже приводится **таблица 1** на основании определения по Кабату и рентгеноструктурного анализа и использования подхода Хотиа и сотрудников.

Легкая цепь		
CDR1'	Кабат	R-A-S-Q-S-V-S-S-S-Y-L-A (SEQ ID NO: 4)
	Хотиа	R-A-S-Q-S-V-S-S-S-Y-L-A (SEQ ID NO: 4)
CDR2'	Кабат	G-A-S-S-R-A-T (SEQ ID NO: 5)
	Хотиа	G-A-S-S-R-A-T (SEQ ID NO: 5)
CDR2'	Кабат	Q-Q-Y-G-S-S-P-C-T (SEQ ID NO: 6)
	Хотиа	Q-Q-Y-G-S-S-P-C-T (SEQ ID NO: 6)
Тяжелая цепь		
CDR1	Кабат	N-Y-W-M-N (SEQ ID NO: 1)
CDR1- x	Хотиа	G-F-T-F-S-N-Y-W-M-N (SEQ ID NO: 11)
CDR2	Кабат	A-I-N-Q-D-G-S-E-K-Y-Y-V-G-S-V-K-G (SEQ ID NO: 2)
CDR2- x	Хотиа	A-I-N-Q-D-G-S-E-K-Y-Y (SEQ ID NO: 12)

CDR3	Кабат	D-Y-Y-D-I-L-T-D-Y-Y-I-H-Y-W-Y-F-D-L (SEQ ID NO: 3)
CDR3- х	Хотиа	C-V-R-D-Y-Y-D-I-L-T-D-Y-Y-I-H-Y-W-Y-F-D-L-W-G (SEQ ID NO: 13)

**Таблица 1.** Аминокислотные последовательности гипервариабельных участков моноклональных антител секукинумаба

В предпочтительных воплощениях домены константного участка также включают домены константного участка человека, например, как описано в «Sequences of Proteins of Immunological Interest», Kabat E.A. et al, US Department of Health and Human Services, Public Health Service, National Institute of Health. ДНК, кодирующая VL секукинумаба, представлена в SEQ ID NO: 9. ДНК, кодирующая VH секукинумаба, представлена в SEQ ID NO: 7.

В некоторых воплощениях антитело к IL-17 или его антигенсвязывающий фрагмент, например, секукинумаб, включает три CDR SEQ ID NO: 10. В других воплощениях антитело к IL-17 или его антигенсвязывающий фрагмент, например, секукинумаб, включает три CDR SEQ ID NO: 8. В других воплощениях антитело к IL-17 или его антигенсвязывающий фрагмент, например, секукинумаб, включает три CDR SEQ ID NO: 10 и три CDR SEQ ID NO: 8. CDR SEQ ID NO: 8 и SEQ ID NO: 10 согласно определению как Кабата, так и Хотиа можно найти в **таблице 1**.

В некоторых воплощениях антитело к IL-17 или его антигенсвязывающий фрагмент, например, секукинумаб, включает легкую цепь SEQ ID NO: 14. В других воплощениях антитело к IL-17 или его антигенсвязывающий фрагмент, например, секукинумаб, включает тяжелую цепь SEQ ID NO: 15. В других воплощениях антитело к IL-17 или его антигенсвязывающий фрагмент, например, секукинумаб, включает легкую цепь SEQ ID NO: 14 и тяжелую цепь SEQ ID NO: 15. В некоторых воплощениях антитело к IL-17 или его антигенсвязывающий фрагмент, например, секукинумаб, включает три CDR SEQ ID NO: 14. В других воплощениях антитело к IL-17 или его антигенсвязывающий фрагмент, например, секукинумаб, включает три CDR SEQ ID NO: 15. В других воплощениях антитело к IL-17 или его

антигенсвязывающий фрагмент, например, секукинумаб, включает три CDR SEQ ID NO: 14 и три CDR SEQ ID NO: 15. CDR SEQ ID NO: 15 и SEQ ID NO: 17 согласно определению как Кабата, так и Хотиа можно найти в **таблице 1**.

Гипервариабельные участки могут ассоциироваться с любым видом каркасных участков, хотя предпочтительно имеют человеческое происхождение. Подходящие каркасные участки описаны в Kabat E.A. et al., цит. выше. Предпочтительным каркасом тяжелой цепи является каркас тяжелой цепи человека, например, каркас антитела секукинумаба. Он состоит, по порядку, из, например, участков FR1 (аминокислоты 1-30 SEQ ID NO: 8), FR2 (аминокислоты 36-49 SEQ ID NO: 8), FR3 (аминокислоты 67-98 SEQ ID NO: 8) и FR4 (аминокислоты 117-127 SEQ ID NO: 8). Принимая во внимание гипервариабельные участки секукинумаба, определенные рентгеноструктурным анализом, другой предпочтительный каркас тяжелой цепи состоит, по порядку, из участков FR1-х (аминокислоты 1-25 SEQ ID NO: 8), FR2-х (аминокислоты 36-49 SEQ ID NO: 8), FR3-х (аминокислоты 61-95 SEQ ID NO: 8) и FR4-х (аминокислоты 119-127 SEQ ID NO: 8). Подобным образом, каркас легкой цепи состоит, по порядку, из участков FR1' (аминокислоты 1-23 SEQ ID NO: 10), FR2' (аминокислоты 36-50 SEQ ID NO: 10), FR3' (аминокислоты 58-89 SEQ ID NO: 10) и FR4' (аминокислоты 99-109 SEQ ID NO: 10).

В одном воплощении антитело к IL-17 или его антигенсвязывающий фрагмент, например, секукинумаб, выбирают из человеческого антитела к IL-17, которое включает по меньшей мере а) тяжелую цепь иммуноглобулина или ее фрагмент, которые включают вариабельный домен, включающий, по порядку, гипервариабельные участки CDR1, CDR2 и CDR3 и константную часть или ее фрагмент тяжелой цепи человека, причем указанный CDR1 имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1, указанный CDR2 имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 2, и указанный CDR3 имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 3; и б) легкую цепь иммуноглобулина или ее фрагмент, которые включают вариабельный домен, включающий, по порядку,

гипервариабельные участки CDR1', CDR2' и CDR3' и константную часть или ее фрагмент легкой цепи человека, причем указанный CDR1' имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 4, указанный CDR2' имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 5, и указанный CDR3' имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 6.

В одном воплощении антитело к IL-17 или его антигенсвязывающий фрагмент, например, секукинумаб, выбирают из одноцепочечной связывающей молекулы, которая включает антигенсвязывающий сайт, включающий а) первый домен, включающий, по порядку, гипервариабельные участки CDR1, CDR2 и CDR3, причем указанный CDR1 имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1, указанный CDR2 имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 2, и указанный CDR3 имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 3; б) второй домен, включающий, по порядку, гипервариабельные участки CDR1', CDR2' и CDR3', причем указанный CDR1' имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 4, указанный CDR2' имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 5, и указанный CDR3' имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 6; и с) пептидный линкер, который соединяет или N-конец первого домена и С-конец второго домена или С-конец первого домена и N-конец второго домена.

С другой стороны, антитело к IL-17 или его антигенсвязывающий фрагмент, например, секукинумаб, для применения в раскрытых способах может включать производное молекул, установленных в настоящем описании последовательностью (например, пегилированную версию секукинумаба). С другой стороны, V<sub>H</sub> или V<sub>L</sub> домен антитела к IL-17 или его антигенсвязывающего фрагмента, например, секукинумаба, для применения в раскрытых способах может иметь V<sub>H</sub> и V<sub>L</sub> домены, которые по существу идентичны V<sub>H</sub> и V<sub>L</sub> доменам, установленным в настоящем описании (например, доменам, определенным в SEQ ID NO: 8 и 10). Человеческое антитело к IL-17, раскрытое в настоящем описании, может включать тяжелую цепь, которая по существу идентична тяжелой цепи, установленной как SEQ ID NO: 15, и/или

легкую цепь, которая по существу идентична легкой цепи, установленной как SEQ ID NO: 14. Человеческое антитело к IL-17, раскрытое в настоящем описании, может включать тяжелую цепь, которая включает SEQ ID NO: 15, и легкую цепь, которая включает SEQ ID NO: 14. Человеческое антитело к IL-17, раскрытое в настоящем описании, может включать а) одну тяжелую цепь, которая включает переменный домен, имеющий аминокислотную последовательность, по существу, идентичную последовательности, представленной в SEQ ID NO: 8, и константную часть тяжелой цепи человека; и б) одну легкую цепь, которая включает переменный домен, имеющий аминокислотную последовательность, по существу, идентичную последовательности, представленной в SEQ ID NO: 10, и константную часть легкой цепи человека. С другой стороны, антитело к IL-17 или его антигенсвязывающий фрагмент, например, секукинумаб, для применения в раскрытых способах может представлять собой вариант аминокислотной последовательности эталонных молекул, представленных в настоящем описании. Во всех таких случаях производного и вариантов антитело к IL-17 или его антигенсвязывающий фрагмент, например, секукинумаб, способны ингибировать активность примерно 1 нМ (=30 нг/мл) человеческого IL-17 при концентрации указанной молекулы примерно 50 нМ или меньше, примерно 20 нМ или меньше, примерно 10 нМ или меньше, примерно 5 нМ или меньше, примерно 2 нМ или меньше или предпочтительнее примерно 1 нМ или меньше на 50%, причем указанную ингибирующую активность измеряют по продуцированию IL-6, индуцированному hu-IL-17 в дермальных фибробластах человека.

Ингибирование связывания IL-17 с его рецептором можно удобно проверить в различных анализах, включая такие анализы, как описанные в WO 2006/013107. Термин «в той же степени» означает, что эталон и дериватизированные молекулы проявляют, по статистике, по существу идентичную активность ингибирования IL-17 в одном из анализов, упомянутых в настоящем описании (см. пример 1 WO 2006/013107). Например, в таком анализе, как описанный в примере 1 в WO 2006/013107, антитело к IL-17 или его антигенсвязывающий фрагмент, раскрытые в настоящем описании, типично имеют IC<sub>50</sub> для ингибирования человеческого IL-17 в

отношении продуцирования IL-6, индуцированного человеческим IL-17 в дермальных фибробластах человека, которые ниже примерно 10 нМ, предпочтительнее, примерно 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 или примерно 1 нМ, предпочтительно, по существу такие же, как IC<sub>50</sub> соответствующей эталонной молекулы. С другой стороны, используемый анализ может представлять собой анализ конкурентного ингибирования связывания IL-17 растворимыми рецепторами IL-17 (например, конструкции R человеческого IL-17/Fc из примера 1 в WO 2006/013107) и антителами к IL-17 или их антигенсвязывающими фрагментами по раскрытию.

Раскрытие также включает антитела к IL-17 или их антигенсвязывающие фрагменты, например, секукинумаб, в которых один или несколько аминокислотных остатков V<sub>H</sub> или V<sub>L</sub> домена, типично только несколько (например, 1-10), заменены относительно V<sub>H</sub> или V<sub>L</sub> домена, представленного как SEQ ID NO: 8 и SEQ ID NO: 10; например, за счет мутации, например, сайтнаправленного мутагенеза, соответствующих ДНК последовательностей. Раскрытие включает ДНК последовательности, кодирующие такие измененные антитела к IL-17.

Раскрытие также включает антитела к IL-17 или их антигенсвязывающие фрагменты, например, секукинумаб, которые имеют специфичность связывания в отношении человеческого IL-17, в частности, антитела к IL-17, способные ингибировать связывание IL-17 с его рецептором, и антитела к IL-17, способные ингибировать активность 1 нМ (=30 нг/мл) человеческого IL-17 при концентрации указанной молекулы примерно 50 нМ или меньше, примерно 20 нМ или меньше, примерно 10 нМ или меньше, примерно 5 нМ или меньше, примерно 2 нМ или меньше или предпочтительнее примерно 1 нМ или меньше на 50% (причем указанную ингибирующую активность измеряют по продуцированию IL-6, индуцированному hu-IL-17 в дермальных фибробластах человека).

В некоторых воплощениях антитело к IL-17, например, секукинумаб, связывается с эпитопом зрелого человеческого IL-17, включающего Leu74, Tyr85, His86, Met87, Asn88, Val124, Thr125, Pro126, Ile127, Val128, His129 на одной цепи и Tyr43, Tyr44, Arg46, Ala79, Asp80 на другой цепи. Схема нумерации остатков,

используемая для определения таких эпитопов, основана на остатке, представляющем собой первую аминокислоту зрелого белка (т.е., IL-17A, утратившего N-концевой сигнальный пептид в 23 аминокислоты и начинающегося с глицина). Последовательность незрелого IL-17A представлена в списке Swiss-Prot Q16552. В некоторых воплощениях антитело к IL-17 имеет  $K_D$  примерно 100–200 пМ, например, при измерении с помощью Biacore®. В некоторых воплощениях антитело к IL-17 имеет  $IC_{50}$  примерно 0,4 нМ для нейтрализации *in vitro* биологической активности примерно 0,67 нМ человеческого IL-17A. В некоторых воплощениях абсолютная биодоступность введенного подкожно (s.c.) антитела к IL-17 имеет интервал примерно 60 – примерно 80%, например, примерно 76%. В некоторых воплощениях антитело к IL-17, такое как секукинумаб, имеет время полувыведения примерно 4 недели (например, примерно 23 – примерно 35 дней, примерно 23 – примерно 30 дней, например, примерно 30 дней). В некоторых воплощениях антитело к IL-17, такое как секукинумаб, имеет  $T_{max}$  примерно 7–8 дней.

Особенно предпочтительные антитела к IL-17 или их антигенсвязывающие фрагменты, такие как секукинумаб, для применения в раскрытых способах, применениях, наборах и т.д. представляют собой человеческие антитела, в особенности, секукинумаб, как описано в примерах 1 и 2 WO 2006/013107 (US 7807155, полностью включенного в настоящее описание в качестве ссылки). Секукинумаб представляет собой рекомбинантное высокоаффинное полноразмерное антитело против человеческого интерлейкина 17A (IL-17A, IL-17) изотипа IgG1/каппа, которое в настоящее время проходит клинические испытания для лечения иммуноопосредованных воспалительных состояний. Секукинумаб (см., например, WO 2006/013107 и WO 2007/117749) имеет весьма высокую аффинность в отношении IL-17, т.е.,  $K_D$  примерно 100–200 пМ (например, при измерении Biacore®) и  $IC_{50}$  для нейтрализации *in vitro* биологической активности примерно 0,67 нМ человеческого IL-17A примерно 0,4 нМ. Таким образом, секукинумаб ингибирует антиген в молярном отношении примерно 1:1. Такая высокая аффинность связывания делает антитело секукинумаб особенно

подходящим для терапевтических применений. Кроме того, установлено, что секукинумаб имеет очень высокий период полувыведения, т.е., примерно 4 недели, что допускает длительные периоды между введением – исключительное свойство при лечении хронических пожизненных расстройств, таких как псориаз.

#### **Фармацевтические продукты, включающие антитела к IL-17 или их антигенсвязывающие фрагменты**

Раскрытие в широком смысле относится к фармацевтическому продукту, включающему контейнер, имеющий свободное пространство с менее примерно 12% кислорода в свободном пространстве и жидкую композицию, размещенную в контейнере, причем указанная жидкая композиция включает вышеописанные антитела к IL-17 или их антигенсвязывающие фрагменты, например, секукинумаб.

#### **Контейнеры**

В фармацевтических продуктах по раскрытию используют первичную упаковку, т.е., контейнеры, для хранения, транспортировки и сохранения раскрытых жидких композиций. Фармацевтически приемлемые контейнеры для применения как части раскрытых фармацевтических продуктов включают шприцы (например, доступные от Becton Dickinson, Nuova Omri, и др.), закрываемые пробками флаконы, картриджи, автоинжекторы, пэтч-насосы и ручки-инжекторы.

#### **Кислород в свободном пространстве**

Авторы изобретения определили, что устойчивость антитела к IL-17 или его антигенсвязывающего фрагмента (например, секукинумаба) в раскрытой жидкой композиции может быть повышена путем включения определенного стабилизатора (например, метионина), с замещением в то же время кислорода в свободном пространстве фармацевтического продукта инертным газом (например, аргоном, гелием, азотом), предпочтительно N<sub>2</sub>. Конкретно, авторы изобретения определили, что фармацевтические продукты, имеющие контейнер, который очищали от кислорода, т.е., имеющий менее примерно 12% кислорода в свободном пространстве, имеет улучшенную устойчивость относительно неочищенных продуктов, например, при измерении методом SEC и ОФ-ВЭЖХ.

Изменения содержания кислорода в свободном пространстве с

использованием продувки (например, продувки азотом) можно достичь во время стадии наполнения или во время стадии закупорки (или той и другой). Очистки (например, продувки азотом) можно достичь путем активного введения инертного газа (например, с использованием иглы) или во время закупоривания.

В некоторых воплощениях содержание кислорода в свободном пространстве составляет менее примерно 12% (например, менее примерно 10%, менее примерно 8%, менее примерно 6% и т.д.). В некоторых воплощениях содержание кислорода в свободном пространстве составляет менее примерно 6%. Содержание кислорода в свободном пространстве можно контролировать с помощью лазерной абсорбционной спектроскопии или тушения флуоресценции или газовой хроматографии. Следует иметь в виду, что содержание кислорода в свободном пространстве данного контейнера может возрасти со временем, например, из-за просачивания. Таким образом, используемое в настоящем описании словосочетание «содержание кислорода в свободном пространстве» относится к начальному уровню кислорода в свободном пространстве контейнера после закрытия (например, закупоривания) продукта.

#### **Жидкие композиции**

Жидкая композиция по раскрытию включает по меньшей мере одно из антител к IL-17 или один из их антигенсвязывающих фрагментов (например, секукиномаба), которые описаны выше, и по меньшей мере один дополнительный эксципиент, например, буфер, поверхностно-активное вещество и стабилизатор(ы) и т.д.. В некоторых воплощениях жидкая композиция включает по меньшей мере два дополнительных эксципиента, например, буфер и стабилизатор. В некоторых воплощениях жидкая композиция включает буфер, по меньшей мере один стабилизатор и поверхностно-активное вещество.

Как правило, фармацевтическая композиция будет составлена с эксципиентами, которые совместимы с предполагаемым путем введения (например, пероральные композиции, как правило, включают инертный разбавитель или съедобный носитель). Примеры путей введения включают парентеральный (например, внутривенный), интрадермальный, подкожный, пероральный (например, через рот или путем ингаляции), трансдермальный (топический), трансмукозальный

и ректальный пути. Жидкие композиции антител по настоящему раскрытию подходят для парентерального введения, такого как внутривенная, внутримышечная, интраперитонеальная или подкожная инъекция, и особенно подходят для подкожной инъекции.

В некоторых воплощениях жидкая композиция по раскрытию сохраняет по меньшей мере примерно 86% чистоту по ОФ-ВЭЖХ после хранения при 2-8°C в течение 6 месяцев, по меньшей мере примерно 76% чистоту по ОФ-ВЭЖХ после хранения при 25°C/60% RH в течение 6 месяцев (предпочтительно по меньшей мере примерно 76%) и/или по меньшей мере примерно 60% чистоту по ОФ-ВЭЖХ после хранения при 30°C/75% RH в течение 6 месяцев. В некоторых воплощениях жидкая композиция по раскрытию сохраняет по меньшей мере примерно 84% чистоту по ОФ-ВЭЖХ после хранения при 2-8°C в течение 24 месяцев.

В некоторых воплощениях жидкая композиция по раскрытию сохраняет по меньшей мере примерно 77% чистоту по СЕХ после хранения при 2-8°C в течение 6 месяцев, по меньшей мере примерно 62% чистоту по СЕХ после хранения при 25°C/60% RH в течение 6 месяцев и/или по меньшей мере примерно 50% чистоту по СЕХ после хранения при 30°C/75% RH в течение 6 месяцев. В некоторых воплощениях жидкая композиция по раскрытию сохраняет по меньшей мере примерно 73% чистоту по СЕХ после хранения при 2-8°C в течение 24 месяцев.

В некоторых воплощениях жидкая композиция по раскрытию сохраняет по меньшей мере примерно 98% чистоту по SEC после хранения при 2-8°C в течение 6 месяцев, по меньшей мере примерно 96% чистоту по SEC после хранения при 25°C/60% RH в течение 6 месяцев и/или по меньшей мере примерно 94% чистоту по SEC после хранения при 30°C/75% RH в течение 6 месяцев. В некоторых воплощениях жидкая композиция по раскрытию сохраняет по меньшей мере примерно 97% чистоту по SEC после хранения при 2-8°C в течение 24 месяцев.

В некоторых воплощениях жидкая композиция по раскрытию сохраняет по меньшей мере примерно 98% чистоту по CE-SDS (в невосстанавливающих условиях) после хранения при 2-8°C в течение

6 месяцев, по меньшей мере примерно 96% чистоту по CE-SDS (в невосстанавливающих условиях) после хранения при 25°C/60% RH в течение 6 месяцев и/или по меньшей мере примерно 94% (предпочтительно по меньшей мере 92%) чистоту по CE-SDS (в невосстанавливающих условиях) после хранения при 30°C/75% RH в течение 6 месяцев. В некоторых воплощениях жидкая композиция по раскрытию сохраняет по меньшей мере примерно 97% чистоту по CE-SDS (в невосстанавливающих условиях) после хранения при 2-8°C в течение 24 месяцев.

В некоторых воплощениях жидкая композиция по раскрытию сохраняет менее примерно 0,57% примесей по CE-SDS (в условиях восстановления) после хранения при 2-8°C в течение 6 месяцев, менее примерно 1,1% примесей по CE-SDS (в условиях восстановления) после хранения при 25°C/60% RH в течение 6 месяцев и/или менее примерно 1,9% примесей по CE-SDS (в условиях восстановления) после хранения при 30°C/75% RH в течение 6 месяцев. В некоторых воплощениях жидкая композиция по раскрытию сохраняет менее примерно 0,91% примесей по CE-SDS (в невосстанавливающих условиях) после хранения при 2-8°C в течение 24 месяцев.

В некоторых воплощениях жидкая композиция по раскрытию сохраняет по меньшей мере примерно 88% относительной биологической активности - ингибирования высвобождения IL-6 из хондроцитов C-20/A4 после хранения при 2-8°C в течение 24 месяцев, по меньшей мере примерно 94% относительной биологической активности - ингибирования высвобождения IL-6 из хондроцитов после хранения при 25°C/60% RH в течение 6 месяцев и/или по меньшей мере примерно 85% относительной биологической активности - ингибирования высвобождения IL-6 из хондроцитов после хранения при 30°C/75% RH в течение 6 месяцев.

#### *Концентрация антител*

Антитело к IL-17 или его антигенсвязывающие фрагменты (например, секукинумаб), используемые в раскрытых жидких композициях, описаны выше. Предпочтительная композиция включает

секукинумаб. Авторы изобретения установили, что по меньшей мере в пределах интервала от примерно 25 мг/мл до примерно 150 мг/мл концентрация антител не оказывает существенного влияния на устойчивость композиции. Поэтому в некоторых воплощениях антитела в жидкой композиции присутствуют в концентрации по меньшей мере 25 мг/мл (например, примерно 25 мг/мл – примерно 150 мг/мл). В некоторых воплощениях концентрация антител в жидкой композиции является высокой концентрацией – по меньшей мере примерно 25 мг/мл, по меньшей мере примерно 50 мг/мл, по меньшей мере примерно 75 мг/мл, по меньшей мере примерно 100 мг/мл или по меньшей мере примерно 150 мг/мл. В некоторых воплощениях концентрация антител в жидкой композиции является высокой концентрацией: примерно 25 мг/мл – примерно 150 мг/мл. В одном воплощении концентрация секукинумаба в жидкой композиции составляет примерно 25 мг/мл. В одном воплощении концентрация секукинумаба в жидкой композиции составляет примерно 150 мг/мл.

#### *Буферы и pH*

Подходящие буферирующие агенты для применения с раскрытыми жидкими композициями включают, но не ограничиваются перечисленным, глюконатный буфер, гистидиновый буфер, цитратный буфер, фосфатный [например, натриевый или калиевый] буфер, сукцинатный [например, натриевый] буфер, ацетатный буфер, трис-буфер, глицин, аргинин и их комбинации. Авторы изобретения установили, что сукцинатный или ацетатный буфер не оказывает благоприятного влияния на устойчивость жидкой композиции секукинумаба. Цитратный буфер оценен как благоприятный в композициях с учетом продуктов разложения по SEC и кислотной СЕХ и продуктов агрегации по ОФ-ВЭЖХ. В целом гистидиновый буфер показывает преимущества по продуктам агрегации и разложения по SEC, кислотной СЕХ и RP-В. Таким образом, гистидиновый буфер является предпочтительным буфером для раскрытых устойчивых жидких композиций секукинумаба.

Гистидиновый буфер (например, в концентрации примерно 5 мМ – примерно 50 мМ, например, примерно 20 мМ – примерно 50 мМ, например, примерно 5 мМ, примерно 10 мМ, примерно 15 мМ, примерно 20 мМ, примерно 25 мМ, примерно 30 мМ, примерно 35 мМ,

примерно 40 мМ, примерно 45 мМ, примерно 50 мМ) является особенно применимым. В одном воплощении устойчивая жидкая композиция включает примерно 20 мМ - примерно 50 мМ гистидинового буфера. В жидкой композиции рН может находиться в интервале 4,0-8,0, причем типичным является рН в интервале примерно 5,5 - примерно 7,4, например, примерно 5,2 - примерно 6,2, примерно 5,2 - примерно 5,8, например, составлять примерно 5,2, примерно 5,3, примерно 5,4, примерно 5,5, примерно 5,6, примерно 5,7, примерно 5,8, примерно 5,9, примерно 6, примерно 6,2, примерно 6,4, примерно 6,6, примерно 6,7, примерно 6,8, примерно 6,9, примерно 7,0, примерно 7,1, примерно 7,2, примерно 7,3, примерно 7,4. Авторы изобретения установили, что при возрастании рН от 5,2 до 5,8 наблюдается положительная тенденция в устойчивости (SEC-AP, DLS, SEC-DP, ALP-DP, СЕХ щелочная, ОФ-ВЭЖХ). В целом испытания показывают, что идеальным рН композиции для раскрытых жидких композиций является 5,8. Так, в одном воплощении рН устойчивой жидкой композиции антител составляет примерно 5,8.

#### *Поверхностно-активные вещества*

Подходящие поверхностно-активные вещества для применения с раскрытыми жидкими композициями включают, но не ограничиваются перечисленным, неионогенные поверхностно-активные вещества, ионогенные поверхностно-активные вещества, цвиттерсионные поверхностно-активные вещества и их комбинации. Типичные поверхностно-активные вещества для применения с изобретением включают, но не ограничиваются перечисленным, эфиры жирных кислот сорбитана (например, сорбитанмонокаприлат, сорбитанмонолаурат, сорбитанмонопальмитат), сорбитантриолеат, эфиры жирных кислот и глицерина (например, монокаприлат глицерина, мономирилат глицерина, моностеарат глицерина), полиглицериновые эфиры жирных кислот (например, декаглицерилмоностеарат, декаглицерилдистеарат, декаглицерилмонолинолеат), полиоксиэтиленсорбитановые эфиры жирных кислот (например, полиоксиэтиленсорбитанмонолаурат, полиоксиэтиленсорбитанмоноолеат, полиоксиэтиленсорбитанмоностеарат,

полиоксиэтиленсорбитанмонопальмитат,  
полиоксиэтиленсорбитантриолеат,  
полиоксиэтиленсорбитантристеарат), полиоксиэтиленсорбитоловые  
эфиры жирных кислот (например, полиоксиэтиленсорбитолтристеарат,  
полиоксиэтиленсорбитолтриолеат), полиоксиэтиленглицериновые  
эфиры жирных кислот (например, полиоксиэтиленглицерилмоностеарат),  
полиэтиленгликолевые эфиры жирных кислот (например, полиэтиленгликольдистеарат),  
полиоксиэтиленалкиловые эфиры (например, полиоксиэтиленлауриловый  
эфир), полиоксиэтилен-полиоксипропиленалкиловые эфиры (например, полиоксиэтилен-  
полиоксипропиленгликоль, полиоксиэтилен-полиоксипропиленпропиловый  
эфир, полиоксиэтилен-полиоксипропиленцетиловый эфир), полиоксиэтилен-  
полиоксипропиленалкилфениловые эфиры (например, полиоксиэтилен-  
полиоксипропиленнонилфениловый эфир), полиоксиэтиленгидрированное  
касторовое масло (например, полиоксиэтиленкасторовое масло, полиоксиэтиленгидрированное  
касторовое масло), полиоксиэтилированные производные пчелиного  
воска (например, полиоксиэтиленсорбитоловый пчелиный воск),  
полиоксиэтилированные производные ланолина (например, полиоксиэтиленланолин) и  
полиоксиэтиленамиды жирных кислот (например, полиоксиэтиленамид стеариновой  
кислоты), (C10-C18) алкилсульфаты (например, цетилсульфат натрия, лаурилсульфат  
натрия, олеилсульфат натрия), сульфат простого полиоксиэтилен (C10-C18)  
алкилэфира с добавленными в среднем 2-4 молями этиленоксидных звеньев  
(например, полиоксиэтиленлаурилсульфат натрия) и соли (C1-C18) алкилсульфосукци-  
натных эфиров (например, натрийлаурилсульфосукцинатного эфира), и природные  
поверхностно-активные вещества, такие как лецитин, глицерофосфолипид,  
сфингофосфолипиды (например, сфингомиелин) и эфиры сахарозы и C12-C18  
жирных кислот. Композиция может включать одно или несколько таких  
поверхностно-активных веществ. Предпочтительными поверхностно-активными  
веществами являются полксамер (например, полксамер 188) или полиоксиэтиленсорбитановые  
эфиры жирных

кислот, например, полисорбат 20, 40, 60 или 80. Полисорбат 80 (твин 80) (например, в концентрации примерно 0,01% - 0,1% (мас./об.), например, примерно 0,01% - примерно 0,04% (мас./об.), например, примерно 0,01%, примерно 0,02%, примерно 0,04%, примерно 0,06%, примерно 0,08%, примерно 0,1%) является особенно применимым. В одном воплощении устойчивая жидкая композиция включает примерно 0,02% (мас./об.) полисорбата 80. В одном воплощении устойчивая жидкая композиция включает примерно 0,02% (мас./об.) полисорбата 20.

Авторы изобретения установили, что имеет место существенное увеличение мутности, а также увеличение количества видимых частиц в жидкой композиции, лишенной поверхностно-активного вещества. Однако не отмечено преимущество полоксамера 188 по сравнению с полисорбатом 20 и 80, за исключением возрастания в ALP-DR и RP. Полисорбат 20 и 80 показывают сравнимую эффективность в предупреждении увеличения мутности, субвидимых и видимых частиц. Таким образом, полисорбат 20 и 80 являются предпочтительными поверхностно-активными веществами для применения в раскрытых жидких композициях.

#### *Стабилизаторы*

Стабилизаторы способствуют предотвращению окисления и агрегации белков в фармацевтических композициях, в частности, жидких фармацевтических композициях, которые имеют более короткий срок хранения из-за склонности белков окисляться и/или образовывать агрегаты в водных растворах. Можно использовать различные аналитические методы для оценки устойчивости данной композиции, например, можно использовать ОФ-ВЭЖХ для оценки уровня продуктов окисления (перед главными пиками) в жидких композициях, раскрытых в настоящем описании, в то время как SEC можно использовать для анализа уровня агрегации в жидких композициях, раскрытых в настоящем описании.

Подходящие стабилизаторы для применения в раскрытых жидких композициях включают ионные и неионные стабилизаторы (и их комбинации), например, сахара, глицин, хлорид натрия, аргинин, ЭДТК, аскорбат натрия, цистеин, бисульфат натрия, цитрат натрия, метионин и бензиловый спирт. В некоторых воплощениях жидкая

фармацевтическая композиция будет содержать по меньшей мере один стабилизатор из группы 1 (например, сахара [например, трегалозу, маннит], аминокислоты [например, глицин, аргинин] и хлорид натрия). В некоторых воплощениях жидкая фармацевтическая композиция будет содержать по меньшей мере один стабилизатор из группы 2 (ЭДТК, аскорбат натрия, цистеин, бисульфат натрия, цитрат натрия, метионин и бензиловый спирт). Стабилизаторы группы 2 имеют склонность обладать антиокислительными свойствами, которые могут уменьшить окисление остатков в антителах к IL-17. В предпочтительных воплощениях жидкая фармацевтическая композиция будет содержать два стабилизатора - один из группы 1 и один из группы 2.

В случае стабилизатора группы 1 предпочтительны неионные стабилизаторы. Подходящие неионные стабилизаторы включают моносахариды, дисахариды и трисахариды, например, трегалозу, раффинозу, мальтозу, сорбит или маннит. Сахар может представлять собой сахарный спирт или аминсахар. Концентрация стабилизатора группы 1 может составлять примерно 175 мМ - примерно 350 мМ, например, примерно 200 мМ - примерно 300 мМ, например, примерно 250 мМ - примерно 270 мМ, например, примерно 180 мМ - примерно 300 мМ, примерно 200 мМ - примерно 225 мМ, примерно 175 мМ, примерно 180 мМ, примерно 185 мМ, примерно 190 мМ, примерно 195 мМ, примерно 200 мМ, примерно 225 мМ, примерно 250 мМ, примерно 270 мМ, примерно 275 мМ, примерно 300 мМ. Особенно применимы маннит в концентрации примерно 200 мМ - примерно 300 мМ (например, примерно 250 мМ - примерно 270 мМ), трегалоза в концентрации примерно 180 мМ - примерно 300 мМ, например, примерно 200 мМ - примерно 225 мМ, хлорид натрия в концентрации примерно 130 мМ - примерно 150 мМ, аргинин в концентрации примерно 160 мМ, глицин в концентрации примерно 270 мМ.

Авторы изобретения установили, что глицин как стабилизатор (группа 1) является несколько более выгодным согласно SEC-AP и DLS, но отмечают возрастание количества почти всех продуктов разложения. NaCl как стабилизатор (группа 1) ведет к возрастанию количества продуктов разложения и агрегации согласно SEC и щелочным вариантам SEC. Трегалоза и маннит действуют как

сравнимые благоприятные стабилизаторы, что подтверждают почти все методы анализа, но маннит показывает несколько меньшее действие (SEC-AP, DLS) плюс меньшую растворимость в воде по сравнению с трегалозой. Таким образом, трегалоза является предпочтительным стабилизатором группы 1 из-за положительного действия на продукты разложения. В одном воплощении жидкая композиция включает примерно 200 мМ – примерно 225 мМ трегалозы. В другом воплощении жидкая композиция включает примерно 200 мМ трегалозы. В другом воплощении жидкая композиция включает примерно 225 мМ трегалозы.

Авторы изобретения установили, что имеется существенное влияние группы 2 на устойчивость жидких композиций секукинумаба. Авторы изобретения в экспериментах показали, что если стабилизатор группы 2 не используют, показатели (SEC-AP, DLS, мутность, RP-B) хуже по сравнению с композициями, содержащими стабилизатор группы 2. Тетранатрий ЭДТК и цистеин показывают возрастание агрегации и продукта разложения в соответствующих методах анализа. Добавление цистеина как стабилизатора группы 2 приводит к мутной композиции после нагрузки замораживание-оттаивание и осаждению при хранении в пределах 4 недель при 40°C. Однако авторы изобретения определили, что метионин является выгодным во всех композициях невзирая на метод анализа. Поэтому в случае стабилизатора группы 2 предпочтительным является метионин, который также имеет антиокислительные свойства. Концентрация стабилизатора группы 2 (например, метионина) может составлять по меньшей мере примерно 2,5 мМ, например, примерно 2,5 мМ – примерно 20 мМ, например, по меньшей мере примерно 2,5 мМ, по меньшей мере примерно 5 мМ, по меньшей мере примерно 10 мМ, по меньшей мере примерно 20 мМ (например, примерно 2,5 мМ, примерно 5 мМ, примерно 10 мМ или примерно 20 мМ). В предпочтительных воплощениях жидкая фармацевтическая композиция будет содержать и по меньшей мере один стабилизатор из группы 1 и метионин. В некоторых воплощениях раскрытые жидкие композиции включают примерно 5 мМ метионина.

*Другие эксципиенты*

Жидкие композиции антител по раскрытию могут включать дополнительные эксципиенты, например, дополнительные буферы, соли (например, хлорид натрия, сукцинат натрия, сульфат натрия, хлорид калия, хлорид магния, сульфат магния и хлорид кальция), дополнительные стабилизаторы, модификатор тоничности (например, соли и аминокислоты [например, пролин, аланин, L-аргинин, аспарагин, L-аспарагиновую кислоту, глицин, серин, лизин и гистидин]), глицерин, альбумин, спирты, консерванты, дополнительные поверхностно-активные вещества, антиоксиданты и т.д.. Основательное обсуждение таких дополнительных фармацевтических ингредиентов доступно в Gennaro (2000), Remington: The Science and Practice of Pharmacy. 20th edition, ISBN: 0683306472.

#### *Дополнительные активные ингредиенты*

Фармацевтические продукты и устойчивые жидкие композиции по раскрытию могут содержать, кроме антитела к IL-17 или его антигенсвязывающего фрагмента, например, секукинумаба, один или несколько других активных агентов (например, средств против псориаза, средств против артрита, средств против анкилозирующего спондилита, средств против ревматоидного артрита). Такие дополнительные факторы и/или агенты можно включать в фармацевтическую композицию для получения синергичного действия с антителами к IL-17 или их антигенсвязывающими фрагментами или минимизации побочного действия, вызываемого антителами к IL-17 или их антигенсвязывающими фрагментами, например, секукинумабом.

Примеры средств против псориаза, которые могут быть включены в препарат совместно с раскрытыми антителами к IL-17, такими как секукинумаб, включают циклоспорин, метотрексат, микофенолата мофетил, микофеноловую кислоту, сульфазалазин, 6-тиогуанин, фумараты (например, диметилфумарат и эфиры фумаровой кислоты), азатиоприн, кортикостероиды, лефлуномид, такролимус, T-клеточные блокаторы (такие как амевив® (алефацепт) и раптива® (эфализумаб), блокаторы фактора некроза опухоли альфа (TNF-альфа) (такие как энбрел® (этанерцепт), хумира® (адалимумаб), ремикад® (инфликсимаб) и симпон® (голимумаб)) и блокаторы

интерлейкина 12/23 (такие как стелара® (устекинумаб), тазоцитиниб и бриакинумаб.

Другие средства против псориаза, которые для лечения псориаза могут быть включены в препарат совместно с раскрытыми антителами к IL-17, такими как секукинумаб, включают апремиласт, мометазон, воклоспорин, кетоконазол, Neuroskin Forte, рекомбинантный человеческий интерлейкин-10, МК-3222, тофацитиниб, VX-795, MED-I545, флуфеназина деканоат, ацетаминофен, бимосиамоза крем, доксициклин, ванкомицин, AbGn168, витамин D3, R05310074, флударабин, кальципотриол и гидрокортизон (LEO 80190), Focetria (моновалентная вакцина, усиленная MF59), вектор для генной терапии tgAAC94, капсаицин, Psirelax, АВТ-874 (анти-IL-12), IDEC-114, MEDI-522, LE29102, BMS 587101, CD 2027, CRx-191, 8-метоксипсорален или 5-метоксипсорален, бициллин L-A, LY2525623, INCB018424, LY2439821, CEP-701, CC-10004, цертолизумаб (CZP), GW786034 (пазопаниб), комплекс доксициклин-куркуминоиды C3, NYC 0462, RG3421, hOKT3-гамма-1(Ala-Ala), BT061, теплизумаб, хондроитина сульфат, CNTO 1275, моноклональное антитело к субъединицам IL-12p40 и IL-23 p40, BMS-582949, МК0873, MEDI-507, M518101, АВТ-874, AMG 827, AN2728, AMG 714, AMG 139, PTH (1-34), пенка U0267, CNTO 1275, QRX-101, CNTO 1959, LEO 22811, имквимод, CTLA4Ig, водоросль Dunaliella Bardawil, пиоглитазон, пимекролимус, ранибизумаб, зидовудин CDP870 (цертолизумаб пэгол), онерсепт (r-hTBP-1), АСТ-128800, 4,4-диметилбензизо-2H-селеназин, CRx-191, CRx-197, доксеркальциферол, LAS 41004, WBI-1001, такролимус, RAD001, рапамицин, розиглитазон, пиоглитазон, АВТ-874, аминоптерин, AN2728, CD2027, АСТ-128800, мометазона фураат, СТ 327, клобетазол+LCD, ВТТ1023, Е6201, топический витамин В12, IP10.C8, ВFN772, LEO 22811, флуфеназин, MM-093, клобекс, SCH 527123, CF101, SRT2104, BIRT2584, CC10004, тетраиомолибдат, CP-690,550, U0267, ASP015K, VB-201, ацитретин (также называемый U0279), RWJ-445380, клобетазола пропионат, ботулиновый токсин типа А, алефает, эрлотиниб, ВСТ194, рофлумиласт, CNTO 1275, галобетазол, ILV-094, СТА018 крем, COL-121, MEDI-507, АЕВ071.

Другие средства против псориаза, которые могут быть включены в препарат совместно с раскрытыми антителами к IL-17, такими как секукинумаб, включают антагонисты IL-6, антагонисты CD20, антагонисты CTLA4, антагонисты IL-17, антагонисты IL-8, антагонисты IL-21, антагонисты IL-22, антагонисты VEGF, антагонисты CXCL, антагонисты MMP, антагонисты дефенсина, антагонисты IL-1-бета и антагонисты IL-23 (например, ловушки рецепторов, антагонистические антитела и т.д.). Предпочтительными средствами против псориаза, которые могут быть включены в препарат совместно с секукинумабом, являются DMARD (например, MTX и циклоспорин), антагонисты IL-12/-23 (например, устекинумаб), антагонисты CTLA-4 (например, CTLA4-Ig) и антагонисты TNF-альфа.

Коротко говоря, средствами против ревматоидного артрита, псориатического артрита и анкилозирующего спондилита, которые могут быть включены в препарат совместно с раскрытыми антителами к IL-17, такими как секукинумаб, могут являться, *inter alia*, иммуносупрессивное средство, DMARD, лекарственное средство для устранения боли, стероид, нестероидное противовоспалительное лекарственное средство (NSAID), антагонист цитокина, анаболик костной ткани, антирезорбционное средство и их комбинации. Характерные средства включают циклоспорин, ретиноиды, кортикостероиды, производные пропионовой кислоты, производные уксусной кислоты, производные еноловых кислот, производные фенаминовой кислоты, ингибиторы Cox-2, люмиракоксиб, ибупрофен, холинсалицилат магния, фенопрофен, салсалат, дифунизал, толметин, кетопрофен, флурбипрофен, оксапрозин, индометацин, сулиндак, этодолак, кеторолак, набуметон, напроксен, вальдекоксиб, эторикоксиб, MK0966; рофекоксиб, ацетаминофен, колекоксиб, диклофенак, трамадол, пироксикам, мелоксикам, теноксикам, дроксикам, лорноксикам, изоксикам, мифенаминовая кислота, меклофенаминовая кислота, флуфенаминовая кислота, толфенаминовая кислота, парекоксиб, аспирин, фирококсиб, метотрексат (MTX), противомаларийные лекарственные средства (например, гидрохлорохин и хлорохин), сульфасалазин, лефлуномид, азатиоприн, соли золота, миноциклин, циклофосфамид, D-

пеницилламин, ауранофин, такролимус, миокризин, хлорамбуцил, антагонисты TNF-альфа (например, антагонисты TNF-альфа или антагонисты рецептора TNF-альфа), например, аналимумаб (хумира®), этанерцепт (энбрел®), инфликсимаб (ремикад®; TA-650), цертолизумаб пэгол (цимзия®; CDP870), голимумаб (симпони®; CNT0148), анакинра (кинерет®), ритуксимаб (ритуксан®; матерa®), абатацепт (оренсия®), тоцилизумаб (роактерма/актерма®), антагонисты интегрина (тизабри® (натализумаб)), антагонисты IL-1 (ACZ885 (иларис)), антагонисты CD4, антагонисты IL-23, антагонисты IL-20, антагонисты IL-6, антагонисты VLYS (например, атацицепт, бенлиста®/лимфостат-B® (белимумаб)), ингибиторы p38, антагонисты CD20 (окрелизумаб, офатумумаб, (арзерра®)), антагонисты интерферона-гамма (фонтолизумаб), преднизолон, преднизон, дексаметазон, кортизол, кортизон, гидрокортизон, метилпреднизолон, бетаметазон, триамцинолон, беклометазон, флудрокортизон, дезоксикартикостерон, альдостерон, SB-681323, Rob 803, AZD5672, AD 452, SMP 114, HZT-501, CP-195,543, доксициклин, ванкомицин, CRx-102, AMG108, пиоглитазон, SBI-087, SCIO-469, Cura-100, онкоксин+виузид, TwHF, PF-04171327, AZD5672, метоксален, ARRY-438162, витамин D - эргокальциферол, милнацепран, паклитаксел, GW406381, розиглитазон, SC12267 (4SC-101); LY2439821, BTT-1023, ERB-041, ERB-041, KB003, CF101, ADL5859, MP-435, ILV-094, GSK706769, GW856553, ASK8007, MOR103, HE3286, CP-690,550 (тазоцитиниб), REGN88 (SAR153191), TRU-015, BMS-582949, SBI-087, LY2127399, E-551S-551, H-551, GSK3152314A, RWJ-445380, такролимус (програф®), RAD001, рапамун, рапамидин, фостаматиниб, фентанил, ХОМА 052, CNTO 136, JNJ 38518168, иматиниб, ATN-103, ISIS 104838, фолиевая кислота, фолат, TNF $\alpha$  kinoid, MM-093, коллаген типа II, VX-509, AMG 827 70, мазитиниб (AB1010), LY2127399, SB-681323, MK0663, NNC 0151-0000-0000, ATN-103, CCX 354-C, SAM3001, LX3305, цетрореликс, MDX-1342, TMI-005, MK0873, CDP870, траниласт, CF101, микофеноловая кислота (и ее эфиры), VX-702, GLPG0259, SB-681323, BG9924, ART621, LX3305, T-614, динатрий фостаматиниба (R935788), CCI-779, ARRY-371797, CDP6038, AMG719, BMS-582949, GW856553, CH-4051, CE-224,535,

GSK1827771, GW274150, BG9924, PLX3397, TAK-783, INCB028050, LY2127399, LY3009104, R788, куркумин (лонгвида™), розувастатин, PRO283698, AMG 714, MTRX1011A, маравирок, MEDI-522, MK0663, STA 5326 мезилат, CE-224, 535, AMG108, BG00012 (BG-12; Biogen), рамиприл, VX-702, CRx-102, LY2189102, SBI-087, SB-681323, CDP870, милнаципран, PD 0360324, PH-797804, AK106-001616, PG-760564, PLA-695, MK0812, ALD518, кобипростон, соматропин, вектор генной терапии tgAAC94, MK0359, GW856553, эзомепразол, эверолимус, трастузумаб, анаболики для костной ткани и антирезорбционные средства (например, PTH, биофосфонаты (например, золедроновая кислота), ингибиторы JAK1 и JAK2, ингибиторы рап JAK, например, тетрациклический пиридон 6 (P6), 325, PF-956980, антагонисты склеростина (например, раскрытые в WO09047356, WO2000/32773, WO2006102070, US20080227138, US20100028335, US 20030229041, WO2005003158, WO2009039175 WO2009079471, WO03106657, WO2006119062, WO08115732, WO2005/014650, WO2005/003158, WO2006/119107, WO2008/061013, WO2008/133722, WO2008/115732, US7592429, US7879322, US7744874, полностью включенных в настоящее описание в качестве ссылок [предпочтительные антитела против склеростина и их антигенсвязывающие части для применения в раскрытых способах, фармацевтических композициях, наборах и применениях описаны в WO09047356 (соответствует US7879322), WO06119107 (соответствует US7872106 и US 7592429) и WO08115732 (соответствует US7744874)], денозумаб, антагонисты IL-6, антагонисты CD20, антагонисты CTLA4, антагонисты IL-8, антагонисты IL-21, антагонисты IL-22, антагонисты интегрин (тизабри® (натализумаб)), антагонисты VEGF, антагонисты CXCL, антагонисты MMP, антагонисты дефензина, антагонисты IL-1 (в том числе, антагонисты IL-1-бета) и антагонисты IL-23 (например, ловушки рецепторов, антагонистические антитела и т.д.). Предпочтительные средства против ревматоидного артрита, которые можно включать в препараты совместно с раскрытыми антителами к IL-17, такими как секукинумаб, являются DMARD, такие как метотрексат, и антагонисты TNF-альфа. Предпочтительные средства против

анкилозирующего спондилита, которые можно включать в препараты совместно с раскрытыми антителами к IL-17, такими как секукинумаб, являются NSAID, DMARDS, такие как сульфасалазин, и антагонисты TNF-альфа. Предпочтительные средства против псориатического артрита, которые можно включать в препараты совместно с раскрытыми антителами к IL-17, такими как секукинумаб, являются DMARDS, такие как циклоспорин, блокаторы CTLA-4 (например, CTLA4-Ig), алексацепт и антагонисты TNF-альфа.

Специалист в данной области техники сможет выделить соответствующие дозировки указанных выше средств для совместной композиции с раскрытыми антителами к IL-17, такими как секукинумаб.

В настоящем описании раскрыты устойчивые жидкие фармацевтические композиции, включающие примерно 20 мг/мл – примерно 175 мг/мл (например, примерно 25 мг/мл – примерно 150 мг/мл) антитела к IL-17 или его антигенсвязывающего фрагмента, раскрытых в настоящем описании (например, секукинумаба), примерно 10 мМ – примерно 30 мМ буфера (например, гистидина), pH 5,2 – примерно 6,0, примерно 200 мМ – примерно 225 мМ стабилизатора (например, трегалозы), примерно 0,02% поверхностно-активного вещества (например, полисорбата 80) и примерно 2,5 мМ – примерно 20 мМ метионина.

В некоторых воплощениях концентрация метионина в жидкой фармацевтической композиции раскрытого фармацевтического продукта составляет примерно 2,5 мМ, примерно 5 мМ, примерно 10 мМ или примерно 20 мМ, предпочтительно, примерно 5 мМ. В некоторых воплощениях pH жидкой фармацевтической композиции составляет примерно 5,8. В некоторых воплощениях концентрация секукинумаба в раскрытой композиции составляет примерно 25 мг/мл или примерно 150 мг/мл. В некоторых воплощениях жидкая фармацевтическая композиция включает буфер, выбранный из группы, включающей гистидиновый буфер, цитратный буфер, ацетатный буфер и сукцинатный буфер. В некоторых воплощениях в жидкой фармацевтической композиции используют гистидиновый буфер в концентрации примерно 20 мМ. В некоторых воплощениях жидкая фармацевтическая композиция включает поверхностно-активное

вещество, выбранное из полисорбата и поллоксамера. В некоторых воплощениях жидкая фармацевтическая композиция дополнительно включает поверхностно-активное вещество, выбранное из полисорбата 80, полисорбата 20 и поллоксамера 188. В некоторых воплощениях жидкая фармацевтическая композиция включает полисорбат 80 в концентрации примерно 0,01% (мас./об.) - примерно 0,04% (мас./об.), предпочтительно примерно 0,02% (мас./об.). В некоторых воплощениях жидкая фармацевтическая композиция включает полисорбат 20 в концентрации примерно 0,02% (мас./об.). В некоторых воплощениях жидкая фармацевтическая композиция включает стабилизатор, выбранный из группы, включающей маннит, хлорид натрия, трегалозу, аргинин.HCl и глицин. В некоторых воплощениях жидкая фармацевтическая композиция включает трегалозу в концентрации примерно 180 мМ - примерно 300 мМ, предпочтительно, примерно 200 мМ или примерно 225 мМ.

В настоящем описании раскрыты фармацевтические продукты, включающие контейнер, имеющий свободное пространство, причем содержание кислорода в свободном пространстве составляет менее примерно 12%, и жидкую фармацевтическую композицию, имеющую pH примерно 5,2 - примерно 6,2, размещенную в указанном контейнере, причем указанная композиция включает примерно 20 мг/мл - примерно 175 мг/мл (например, примерно 25 мг/мл - примерно 150 мг/мл) антитела к IL-17 или его антигенсвязывающего фрагмента, раскрытых в настоящем описании (например, секукиномаба); и примерно 2,5 - примерно 20 мМ L-метионина, причем жидкая фармацевтическая композиция не является восстановленной из лиофилизата.

В некоторых воплощениях концентрация метионина в жидкой фармацевтической композиции раскрытого фармацевтического продукта составляет примерно 2,5 мМ, примерно 5 мМ, примерно 10 мМ или примерно 20 мМ, предпочтительно, примерно 5 мМ. В некоторых воплощениях содержание кислорода в свободном пространстве раскрытого фармацевтического продукта составляет менее примерно 10%, например, менее примерно 8%, предпочтительно, менее примерно 6%. В некоторых воплощениях жидкая фармацевтическая композиция раскрытого фармацевтического

продукта имеет рН примерно 5,8. В некоторых воплощениях концентрация секукинумаба в жидкой фармацевтической композиции раскрытого фармацевтического продукта составляет примерно 25 мг/мл или примерно 150 мг/мл. В некоторых воплощениях жидкая фармацевтическая композиция раскрытого фармацевтического продукта дополнительно включает буфер, выбранный из группы, включающей гистидиновый буфер, цитратный буфер, ацетатный буфер и сукцинатный буфер. В некоторых воплощениях в жидкой фармацевтической композиции раскрытого фармацевтического продукта используют буфер в концентрации примерно 10 мМ – примерно 30 мМ. В некоторых воплощениях в жидкой фармацевтической композиции раскрытого фармацевтического продукта используют гистидиновый буфер в концентрации примерно 20 мМ. В некоторых воплощениях жидкая фармацевтическая композиция раскрытого фармацевтического продукта дополнительно включает поверхностно-активное вещество, выбранное из группы, включающей полисорбат и полуксамер. В некоторых воплощениях жидкая фармацевтическая композиция раскрытого фармацевтического продукта дополнительно включает поверхностно-активное вещество, выбранное из полисорбата 80, полисорбата 20 и полуксамера 188. В некоторых воплощениях жидкая фармацевтическая композиция раскрытого фармацевтического продукта включает полисорбат 80 в концентрации примерно 0,01% (мас./об.) – примерно 0,04% (мас./об.), предпочтительно примерно 0,02% (мас./об.). В некоторых воплощениях жидкая фармацевтическая композиция раскрытого фармацевтического продукта включает полисорбат 20 в концентрации примерно 0,02% (мас./об.). В некоторых воплощениях жидкая фармацевтическая композиция раскрытого фармацевтического продукта дополнительно включает стабилизатор, выбранный из группы, включающей маннит, хлорид натрия, трегалозу, аргинин.HCl и глицин. В некоторых воплощениях жидкая фармацевтическая композиция раскрытого фармацевтического продукта дополнительно включает трегалозу в концентрации примерно 180 мМ – примерно 300 мМ, предпочтительно, примерно 200 мМ или примерно 225 мМ. В некоторых воплощениях контейнер раскрытого фармацевтического продукта представляет собой картридж, шприц, ручку или флакон.

В настоящем описании раскрыты фармацевтические продукты, включающие контейнер, имеющий свободное пространство, причем содержание кислорода в свободном пространстве составляет менее примерно 6%, и жидкую фармацевтическую композицию, размещенную в указанном контейнере, причем указанная композиция включает примерно 20 мг/мл - примерно 175 мг/мл (например, примерно 25 мг/мл - примерно 150 мг/мл) антитела к IL-17 или его антигенсвязывающего фрагмента, раскрытых в настоящем описании (например, секукинумаба), примерно 10 мМ - примерно 30 мМ гистидина, рН 5,8, примерно 200 мМ - примерно 225 мМ трегалозы, примерно 0,02% полисорбата 80 и примерно 2,5 - примерно 20 мМ метионина, причем жидкая фармацевтическая композиция не является восстановленной из лиофилизата.

В некоторых воплощениях фармацевтический продукт включает примерно 25 мг/мл секукинумаба и примерно 225 мМ трегалозы. В некоторых воплощениях фармацевтический продукт включает примерно 150 мг/мл секукинумаба и примерно 200 мМ трегалозы. В некоторых воплощениях контейнер раскрытого фармацевтического продукта представляет собой картридж, шприц, ручку или флакон.

В некоторых воплощениях фармацевтический продукт имеет достаточное количество антагониста IL-17 для доставки по меньшей мере примерно 75 мг - примерно 300 мг антагониста IL-17 (например, антитела к IL-17, например, секукинумаба) на стандартную дозу. В некоторых воплощениях фармацевтический продукт имеет достаточное количество антагониста IL-17 (например, антитела к IL-17, например, секукинумаба) для доставки по меньшей мере примерно 10 мг/кг на стандартную дозу. В некоторых воплощениях фармацевтический продукт получен в дозировке для возможности внутривенной доставки примерно 10 мг/кг антагониста IL-17 (например, антитела к IL-17, например, секукинумаба) на стандартную дозу. В некоторых воплощениях фармацевтический продукт получен в дозировке для возможности подкожной доставки примерно 75 мг - примерно 300 мг антагониста IL-17 (например, антитела к IL-17, например, секукинумаба) на стандартную дозу.

**Способы получения жидких композиций и фармацевтических**

**продуктов**

В настоящем описании также описываются способы получения фармацевтических продуктов и жидких композиций по раскрытию. Эти способы способствуют снижению окисления раскрытых антител к IL-17. Коротко, жидкую композицию получают путем объединения нужных эксципиентов (например, стабилизатора группы 1 (например, трегалозы), стабилизатора группы 2 (метионина), поверхностно-активного вещества (например, PS80), буфера (например, гистидина)) с антителом к IL-17 или его антигенсвязывающим фрагментом (например, секукинумабом) в нужной концентрации (например, примерно 25 - примерно 150 мг/мл секукинумаба, примерно 20 мМ гистидина, рН 5,8, примерно 200 мМ - примерно 225 мМ трегалозы, примерно 0,02% полисорбата 80 и примерно 2,5 мМ - примерно 20 мМ метионина) и рН (например, примерно 5,8). Затем такую жидкую композицию помещают в выбранный контейнер (например, флакон, шприц, картридж [например, для применения в автоинъекторе]). Содержание кислорода в свободном пространстве доводят до нужного уровня (например, менее примерно 12%, менее 10%, менее примерно 8%, менее примерно 6% и т.д.), что можно осуществить до заполнения контейнера жидкой композицией, во время заполнения контейнера жидкой композицией или во время закупорки/герметического закрытия контейнера.

В настоящем описании раскрываются способы уменьшения окисления секукинумаба, включающие получение жидкой композиции, имеющей рН примерно 5,2 - примерно 6,2 и включающей примерно 25 - примерно 175 мг/мл (например, примерно 25 мг/мл - примерно 150 мг/мл антитела к IL-17 или его антигенсвязывающего фрагмента, раскрытых в настоящем описании (например, секукинумаба), и примерно 2,5 мМ - примерно 20 мМ метионина; причем указанную жидкую композицию размещают в контейнере, имеющем свободное пространство, и доводят содержание кислорода в свободном пространстве до уровня, равного или меньше примерно 12%.

В некоторых воплощениях раскрытых способов регулирование на стадии с) выполняют путем продувки свободного пространства с использованием инертного газа. В некоторых воплощениях раскрытых способов инертным газом является азот или аргон. В некоторых

воплощениях раскрытых способов концентрация метионина в жидкой композиции составляет примерно 2,5 мМ, примерно 5 мМ, примерно 10 мМ или примерно 20 мМ, предпочтительно примерно 5 мМ. В некоторых воплощениях раскрытых способов содержание кислорода в свободном пространстве регулируют до менее примерно 10%, например, до менее примерно 8%, предпочтительно до менее примерно 6%. В некоторых воплощениях раскрытых способов жидкая композиция имеет рН примерно 5,8. В некоторых воплощениях раскрытых способов концентрация секукинумаба в жидкой композиции составляет примерно 25 мг/мл или примерно 150 мг/мл. В некоторых воплощениях раскрытых способов контейнер представляет собой картридж, шприц, ручку или флакон.

#### **Способы применения фармацевтических продуктов и жидких композиций**

Раскрытые фармацевтические продукты и жидкие композиции будут применяться для лечения пациентов, например, имеющих аутоиммунные заболевания (например, псориаз, ревматоидный артрит, анкилозирующий спондилит, псориатический артрит и т.д.). Соответствующая дозировка конечно будет изменяться в зависимости от, например, используемых определенных антител к IL-17 или их антигенсвязывающих фрагментов, например, секукинумаба, реципиента, способа введения и характера и тяжести состояния, от которого лечат, и от характера предшествующего лечения, которому подвергался пациент. В конечном итоге лечащий врач будет решать вопрос о количестве антител к IL-17, которое нужно для лечения каждого отдельного пациента. В некоторых воплощениях лечащий врач может назначить низкие дозы антитела к IL-17 и наблюдать за реакцией пациента. В других воплощениях начальная(ые) доза(ы) антитела к IL-17, вводимая(ые) пациенту, является(ются) высокой(ими) и затем снижается(ются) до появления признаков рецидива. Более высокие дозы антитела к IL-17 можно вводить до получения оптимального терапевтического эффекта для пациента, и дозировку, как правило, дополнительно не повышают.

Хронометраж дозирования обычно измеряют со дня первой дозы активного соединения (например, секукинумаба), который также называют «линией отсчета». Однако лечащие врачи используют

различные условные обозначения, как видно ниже в **таблице 2**.

Неделя	0/1	1/2	2/3	3/4	4/5	5/6	6/7	7/8	8/9	и тд
1-ый день	0/1	7/8	14/1 5	21/2 2	28/2 9	35/3 6	42/4 3	49/5 0	56/5 7	и тд

**Таблица 2.** Обычные условные обозначения для схемы дозирования. Элементы, выделенные жирным шрифтом, относятся к условным обозначениям, используемым в настоящем описании.

Примечательно, что некоторые лечащие врачи могут неделю ноль называть неделей 1, в то время как некоторые лечащие врачи могут день ноль называть днем один. Таким образом, возможно, что различные специалисты будут определять, например, дозу, которую дают в течение недели 3/в день 21, в течение недели 3/в день 22, в течение недели 4/в день 21, в течение недели 4/в день 22, хотя это относится к одной и той же схеме применения доз. Сообразно первая неделя дозирования в настоящем описании будет обозначаться как неделя 0, в то время как первый день дозирования будет обозначаться как день 1. Однако специалисту в данной области техники следует иметь в виду, что условное обозначение используется просто для согласованности и не должно рассматриваться как ограничение, т.е., еженедельное дозирование является предоставлением еженедельной дозы антител к IL-17 или их антигенсвязывающих фрагментов, например, секукиномаба, несмотря на обозначение врача определенной недели как «недели 1» или «недели 2». Как пример обозначения с использованием условия, определенного в настоящем описании, пять доз секукиномаба, вводимых еженедельно, можно предоставить во время недели 0 (например, примерно в день 1), во время недели 1 (например, примерно в день 8), во время недели 2 (например, примерно в день 15), во время недели 3 (например, примерно в день 22) и во время недели 4 (например, примерно в день 29). Следует иметь в виду, что необходимая доза не предоставляется в какой-то точный момент времени, например, доза может быть предоставлена приблизительно в день 29, например, в день 24 - день 34, например, день 30, до тех пор, пока она предоставляется в соответствующую неделю.

В некоторых воплощениях в раскрытых способах и применениях

используют начальную (иногда называемую «индуктивной») схему, которая длится 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или 16 недель. В некоторых воплощениях в начальной схеме применяют дозирование во время недель 0, 1, 2 и 3. В других воплощениях в начальной схеме применяют дозирование во время недель 0, 1, 2, 3, 4, 8 и 12. В некоторых воплощениях начальная схема включает введение нескольких (например, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, предпочтительно 4 или 5) доз примерно в 150 мг - 300 мг, например, примерно четыре или пять доз в 150 мг или 300 мг (предпочтительно пять доз в примерно 150 мг - примерно 300 мг) антитела к IL-17, например, секукинумаба. В других воплощениях начальные дозы доставляют еженедельно, каждые две недели, каждую вторую неделю или ежемесячно [каждые 4 недели], предпочтительно еженедельно. В некоторых воплощениях 150 мг или 300 мг антитела к IL-17, например, секукинумаба, вводят подкожной инъекцией с начальным дозированием в недели 0, 1, 2 и 3.

В поддерживающей схеме доза может предоставляться каждый месяц (что также называется ежемесячным дозированием) (т.е., каждые 4 недели, т.е., примерно каждые 28 дней), каждые два месяца (т.е., каждые 8 недель, т.е., примерно каждые 56 дней) или каждые три месяца (т.е., каждые 12 недель, т.е., примерно каждые 84 дня). В некоторых воплощениях поддерживающая схема начинается после недели 12. В некоторых воплощениях поддерживающая схема начинается после недели 3. Первая доза в поддерживающей схеме будет вводиться на дату, обычно измеряемую от конечной дозы индуктивной схемы. Таким образом, например, если конечная доза индуктивной схемы предоставляется во время недели 12, тогда первая доза как часть ежемесячной [каждые 4 недели] поддерживающей схемы будет доставляться во время недели 16, первая доза как часть поддерживающей схемы каждые два месяца будет доставляться во время недели 20, первая доза как часть поддерживающей схемы каждые три месяца будет доставляться во время недели 24 и т.д.. В некоторых воплощениях поддерживающая схема включает введение дозы антитела к IL-17 или его антигенсвязывающего фрагмента, например, секукинумаба, еженедельно, каждые две недели, ежемесячно [каждые 4 недели],

каждый второй месяц, ежеквартально, два раза в год или ежегодно. В некоторых воплощениях в поддерживающей схеме используют ежемесячное дозирование (каждые 4 недели). В некоторых воплощениях первую дозу поддерживающей схемы доставляют во время недели 4 или во время недели 16. В некоторых воплощениях поддерживающая схема включает введение дозы антитела к IL-17 или его антигенсвязывающего фрагмента, например, секукиномаба, в примерно 150 мг - 300 мг, например, примерно 150 мг или примерно 300 мг.

Доставка антитела к IL-17, такого как секукиномаб, на протяжении схемы нагрузки, индуктивной схемы и/или поддерживающей схемы может происходить подкожным путем, например, доставка доз в примерно 75 мг - примерно 300 мг (например, примерно 50 мг, примерно 75 мг, примерно 100 мг, примерно 125 мг, примерно 150 мг, примерно 175 мг, примерно 200 мг, примерно 225 мг, примерно 250 мг, примерно 275 мг, примерно 300 мг, примерно 325 мг), внутривенным путем, например, доставка доз в примерно 1 мг/кг - примерно 50 мг/кг (например, примерно 1 мг/кг, примерно 3 мг/кг, примерно 10 мг/кг, примерно 30 мг/кг, примерно 40 мг/кг, примерно 50 мг/кг, и т.д.) или любым другим путем введения (например, внутримышечным, i.m.). В предпочтительных воплощениях дозу антитела к IL-17 доставляют s.c..

В предпочтительных воплощениях пациенту вводят дозу примерно 150 мг - примерно 300 мг (например, примерно 150 мг или примерно 300 мг) антитела к IL-17 или его антигенсвязывающего фрагмента, например, секукиномаба, подкожной инъекцией, с начальным дозированием в недели 0, 1, 2 и 3, затем по поддерживающей схеме ежемесячно, начиная с недели 4. По такой схеме дозирование происходит каждую из недель 0, 1, 2, 3, 4, 8, 12, 16, 20 и т.д.. Доза в 300 мг также может даваться как две подкожные инъекции по 150 мг.

В настоящем описании раскрываются способы лечения аутоиммунного заболевания (например, псориаза, ревматоидного артрита, анкилозирующего спондилита, псориатического артрита), включающие введение пациенту, нуждающемуся в этом, дозы в

примерно 150 мг – примерно 300 мг (например, примерно 150 мг или примерно 300 мг) антитела к IL-17 или его антигенсвязывающего фрагмента, например, секукиномаба, подкожной инъекцией, с начальным дозированием в недели 0, 1, 2 и 3, затем по поддерживающей схеме ежемесячно, начиная с недели 4, причем антитело к IL-17 или его антигенсвязывающий фрагмент, например, секукиномаб, предоставляются как часть фармацевтической композиции, включающей примерно 20 мг/мл – примерно 175 мг/мл (например, примерно 25 мг/мл – примерно 150 мг/мл) антитела к IL-17 или его антигенсвязывающего фрагмента, например, секукиномаба, буфер, имеющий pH примерно 5,2 – примерно 6,2, и примерно 2,5 – примерно 20 мМ метионина, причем жидкая фармацевтическая композиция не является восстановленной из лиофилизата.

В настоящем описании раскрывается применение антитела к IL-17 (например, секукиномаба) для изготовления лекарственного средства для лечения аутоиммунного заболевания (например, псориаза, ревматоидного артрита, анкилозирующего спондилита, псориатического артрита) у пациента, причем лекарственное средство получают как включающее контейнеры, причем каждый контейнер имеет свободное пространство с содержанием кислорода менее примерно 12% (например, менее примерно 10%, менее примерно 8%, менее примерно 7%, менее примерно 6%, и т.д.) и жидкую фармацевтическую композицию, размещенную в контейнере, причем указанная композиция включает примерно 20 мг/мл – примерно 175 мг/мл (например, примерно 25 мг/мл – примерно 150 мг/мл) антитела к IL-17 или его антигенсвязывающего фрагмента, раскрытых в настоящем описании (например, секукиномаба), причем жидкая фармацевтическая композиция не является восстановленной из лиофилизата.

**Наборы, включающие фармацевтические продукты и жидкие композиции**

Раскрытие также охватывает наборы для лечения различных аутоиммунных заболеваний (например, псориаза). Такие наборы вообще включают по меньшей мере один из раскрытых фармацевтических продуктов или жидких композиций и инструкции по

применению. Инструкции будут раскрывать соответствующие методы предоставления устойчивой жидкой композиции пациенту как части схемы дозирования. Такие наборы также могут включать дополнительные агенты (описанные выше) для лечения аутоиммунных заболеваний, например, псориаза, для доставки в комбинации (т.е., одновременно или последовательно [до или после]) с включенной жидкой композицией.

В настоящем описании раскрываются наборы для лечения пациента с аутоиммунным заболеванием (например, псориазом), включающие а) контейнер, имеющий свободное пространство, причем содержание кислорода в свободном пространстве составляет менее примерно 12% (например, менее примерно 10%, менее примерно 8%, менее примерно 7%, менее примерно 6%, и т.д.), б) жидкую фармацевтическую композицию, размещенную в указанном контейнере, причем указанная композиция включает i) примерно 20 мг/мл - примерно 175 мг/мл (например, примерно 25 мг/мл - примерно 150 мг/мл) антитела к IL-17 или его антигенсвязывающего фрагмента, раскрытых в настоящем описании (например, секукинумаба), ii) буфер, имеющий pH примерно 5,2 - примерно 6,2, и iii) примерно 2,5-20 мМ метионина, причем жидкая фармацевтическая композиция не является восстановленной из лиофилизата, и с) инструкции по введению жидкой фармацевтической композиции пациенту. В некоторых воплощениях контейнер представляет собой ручку, предварительно заполняемый шприц, автоинжектор или флакон.

#### **Общие положения**

В некоторых воплощениях раскрытия антитело к IL-17 или его антигенсвязывающий фрагмент выбирают из группы, включающей а) антитело к IL-17, которое связывается с эпитопом IL-17, включающим Leu74, Tyr85, His86, Met87, Asn88, Val124, Thr125, Pro126, Ile127, Val128, His129; б) антитело к IL-17, которое связывается с эпитопом Tyr43, Tyr44, Arg46, Ala79, Asp80; в) антитело к IL-17, которое связывается с эпитопом гомодимера IL-17, имеющим две цепи зрелого белка IL-17, причем указанный эпитоп включает Leu74, Tyr85, His86, Met87, Asn88, Val124, Thr125, Pro126, Ile127, Val128, His129 в одной цепи и Tyr43, Tyr44, Arg46, Ala79, Asp80 в другой цепи; д) антитело к IL-17,

которое связывается с эпитопом гомодимера IL-17, имеющим две цепи зрелого белка IL-17, причем указанный эпитоп включает Leu74, Tyr85, His86, Met87, Asn88, Val124, Thr125, Pro126, Ile127, Val128, His129 в одной цепи и Tyr43, Tyr44, Arg46, Ala79, Asp80 в другой цепи, причем связывающая IL-17 молекула имеет  $K_D$  примерно 100 - примерно 200 пМ (например, при измерении Biacore®), и причем связывающая IL-17 молекула имеет период полувыведения *in vivo* примерно 23 - примерно 30 дней; и е) антитело к IL-17, которое включает антитело, выбранное из группы, включающей i) переменный домен тяжелой цепи иммуноглобулина ( $V_H$ ), включающий аминокислотную последовательность, представленную как SEQ ID NO: 8; ii) переменный домен легкой цепи иммуноглобулина ( $V_L$ ), включающий аминокислотную последовательность, представленную как SEQ ID NO: 10; iii) домен иммуноглобулина  $V_H$ , включающий аминокислотную последовательность, представленную как SEQ ID NO: 8, и домен иммуноглобулина  $V_L$ , включающий аминокислотную последовательность, представленную как SEQ ID NO: 10; iv) домен иммуноглобулина  $V_H$ , включающий, по порядку, гиперпеременные участки, представленные как SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2 и SEQ ID NO: 3; v) домен иммуноглобулина  $V_L$ , включающий, по порядку, гиперпеременные участки, представленные как SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5 и SEQ ID NO: 6; vi) домен иммуноглобулина  $V_H$ , включающий, по порядку, гиперпеременные участки, представленные как SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 12 и SEQ ID NO: 13; vii) домен иммуноглобулина  $V_H$ , включающий, по порядку, гиперпеременные участки, представленные как SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2 и SEQ ID NO: 3, и домен иммуноглобулина  $V_L$ , включающий, по порядку, гиперпеременные участки, представленные как SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5 и SEQ ID NO: 6; и viii) домен иммуноглобулина  $V_H$ , включающий, по порядку, гиперпеременные участки, представленные как SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 12 и SEQ ID NO: 13, и домен иммуноглобулина  $V_L$ , включающий, по порядку, гиперпеременные участки, представленные как SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5 и SEQ ID NO: 6; ix) тяжелую цепь иммуноглобулина,

включающую аминокислотную последовательность, представленную как SEQ ID NO: 15 (с С-концевым лизином или без него); х) легкую цепь иммуноглобулина, включающую аминокислотную последовательность, представленную как SEQ ID NO: 14; xi) тяжелую цепь иммуноглобулина, включающую аминокислотную последовательность, представленную как SEQ ID NO: 15 (с С-концевым лизином или без него), и легкую цепь иммуноглобулина, включающую аминокислотную последовательность, представленную как SEQ ID NO: 14. В некоторых воплощениях раскрытия антитело к IL-17 или его антигенсвязывающий фрагмент представляет собой человеческое антитело, предпочтительно, секукинумаб.

Детали одного или нескольких воплощений раскрытия приводятся в приведенном выше описании. Хотя любые способы и материалы, схожие или равноценные раскрытым в настоящем описании, можно использовать в практике или проверке настоящего раскрытия, теперь описываются предпочтительные способы и материалы. Другие особенности, цели и преимущества раскрытия будут очевидны из описания и из формулы изобретения. В описании и прилагаемой формуле изобретения формы единственного числа включают формы множественного числа, если контекст четко не диктует иное. Если не определено иначе, все технические и научные термины, используемые в настоящем описании, имеют те же значения, какие им обычно придают специалисты в данной области техники, к которым относится настоящее раскрытие. Все патенты и публикации, цитированные в настоящем описании, включены в него в качестве ссылок. Следующие далее примеры представлены для того, чтобы полнее пояснить предпочтительные воплощения раскрытия. Эти примеры никоим образом не следует рассматривать как ограничивающие объем раскрытого беспокоящего вопроса, определенный прилагаемой формулой изобретения.

#### **ПРИМЕРЫ**

Понятно, что примеры и воплощения, описанные в настоящем описании, приводятся только в целях пояснения, и что специалистами в данной области техники будут предполагаться различные модификации и изменения в таком свете, и они должны входить в сущность и сферу действия настоящей заявки и объем

прилагаемой формулы изобретения.

В этих примерах описывается разработка устойчивых жидких композиций секукинумаба. Результаты показывают, что pH композиции и выбор стабилизатора группы 2 оказывают большое влияние на устойчивость жидкой композиции. Результаты также показывают последствия содержания кислорода в свободном пространстве как влияющие на устойчивость жидкой композиции. Концентрация антител, выбор поверхностно-активного вещества, выбор стабилизатора 1 группы и выбор буферной системы имеют меньшее влияние на устойчивость. Поэтому, принимая во внимание переменные, имеющие большее воздействие на устойчивость, раскрытые фармацевтические продукты включают контейнер (например, PFS или флакон), имеющий свободное пространство, причем содержание кислорода в свободном пространстве составляет менее примерно 12%, и жидкую фармацевтическую композицию, размещенную в указанном контейнере, причем указанная композиция имеет pH примерно 5,2 - примерно 6,2 и включает секукинумаб в концентрации примерно 20 мг/мл - примерно 175 мг/мл и примерно 2,5 - примерно 20 мМ L-метионина. Принимая во внимание переменные, имеющие как большое, так и небольшое воздействие на устойчивость, раскрытые фармацевтические продукты включают контейнер (например, PFS или флакон), имеющий свободное пространство, причем содержание кислорода в свободном пространстве составляет менее примерно 12%, и жидкую фармацевтическую композицию, размещенную в указанном контейнере, причем указанная композиция имеет pH примерно 5,2 - примерно 6,2 и включает секукинумаб, буфер, поверхностно-активное вещество, стабилизатор и примерно 2,5 - примерно 20 мМ L-метионина.

На основании результатов, раскрытых ниже, предпочтительная жидкая композиция включает примерно 25 мг/мл - примерно 165 мг/мл секукинумаба, примерно 185 мМ - примерно 225 мМ трегалозы, примерно 0,01% - примерно 0,03% полисорбата 80, примерно 2,5 мМ - примерно 20 мМ L-метионина и примерно 10-30 мМ гистидинового буфера (например, примерно 20 мМ гистидинового буфера) с pH примерно 5,8.

Предпочтительная жидкая композиция I включает примерно 150

мг/мл секукиномаба, примерно 200 мМ трегалозы, примерно 0,02% полисорбата 80, примерно 5 мМ L-метионина и примерно 20 мМ гистидинового буфера с рН примерно 5,8. Предпочтительный фармацевтический продукт I включает вышеуказанную жидкую композицию I, размещенную в предварительно заполняемом шприце (PFS).

Другая предпочтительная жидкая композиция II включает примерно 25 мг/мл секукиномаба, примерно 225 мМ трегалозы, примерно 0,02% полисорбата 80, примерно 5 мМ L-метионина и примерно 20 мМ гистидинового буфера с рН примерно 5,8. Предпочтительный фармацевтический продукт II включает вышеуказанную жидкую композицию I, размещенную во флаконе.

<b>Аббревиатура</b>	<b>Определение</b>
CE-SDS	Капиллярный электрофорез (додецилсульфат натрия)
CEX	Катионообменная хроматография
Cys-CEX	Катионообменная хроматография с использованием цистамина
DLS	Динамическое рассеяние света
DoE	План эксперимента
ВЭЖХ	Высокоэффективная жидкостная хроматография
LLS	Рассеяние лазерного света
RH	Относительная влажность
ОФ-ВЭЖХ	Высокоэффективная жидкостная хроматография с обращенной фазой
SDS-PAGE	Электрофорез в полиакриламидном геле в присутствии додецилсульфата натрия
SEC	Эксклюзионная хроматография
AP-SEC	Продукты агрегации по SEC
DP-SEC	Продукты разложения по SEC

**Таблица 3.** Аббревиатуры, используемые в примерах

Методы анализа
УФ: анализ белка по поглощению УФ
SEC: чистота по SEC, AP-SEC, DP-SEC
SDS-PAGE: чистота по SDS-PAGE (в невозстанавливающих условиях), чистота по SDS-PAGE (в условиях восстановления), примеси по SDS-PAGE (в условиях восстановления)

CE-SDS: чистота по CE-SDS (в невосстанавливающих условиях), примеси по CE-SDS (в невосстанавливающих условиях) LLS: средняя молекулярная масса по LLS DLS: полидисперсность по DLS, гидродинамический радиус по DLS Мутность Субвидимые частицы в режиме светотени Видимые частицы
ОФ-ВЭЖХ: чистота по ОФ-ВЭЖХ и часть перед главным пиком по ОФ-ВЭЖХ СЕХ: чистота по СЕХ, кислотные варианты по СЕХ, щелочные варианты по СЕХ Цвет
Активность по Cys-СЕХ Свободные SH-группы (проба Элмана) Биологическая активность

**Таблица 4.** Аналитические исследования, используемые в примерах

**1.1. Часть I. Подробный анализ переменных с большим влиянием на устойчивость состояния жидкости с секукинумабом (кислород в свободном пространстве, pH и L-метионин)**

**1.1.1. Пример 1. L-Метионин**

Влияние некоторых антиокислительных стабилизаторов на устойчивость секукинумаба характеризуют с использованием широкого набора аналитических методов.

В начале исследования оценивают ряд антиокислительных стабилизаторов, включая тетранатрий ЭДТК, аскорбат натрия, цистеин, бисульфит натрия и цитрат натрия. Хотя ни один из них не стабилизирует адекватно молекулу, небольшой стабилизирующий эффект на продукты агрегации по SEC виден у тетранатрия ЭДТК и цитрата натрия по сравнению с композициями, не содержащими антиокислительные стабилизаторы (данные не приводятся).

В дальнейших исследованиях оценивают стабилизаторы цистеин, тетранатрий ЭДТК и L-метионин в концентрации 10 мМ и сравнивают с отсутствием стабилизатора с использованием секукинумаба в концентрации 150 мг/мл при подходе DoE. Композиции наливают в

PFS и помещают на 2 месяца для исследования устойчивости в условиях длительного хранения (5°C), ускоренного хранения (25°C) и хранения в стрессовых условиях (40°C), и оценивают в отношении физической устойчивости (AP-SEC, DLS, мутность, видимые и субвидимые частицы в режиме светотени), химической устойчивости (чистота по СЕХ, чистота по ОФ-ВЭЖХ, цвет) и индикаторов биологической активности (активность по Cys-СЕХ, свободные SH-группы). Кроме того, к композициям, налитым в 2-мл флаконы, применяют нагрузку замораживание-оттаивание (5 циклов от -20°C до комнатной температуры) и встряхивания (150 об/мин в течение одной недели).

Находят, что L-метионин является лучшим стабилизатором группы 2 для секукиномаба. Это показывают более высокие уровни чистоты при измерении чистоты СЕХ и чистоты по ОФ-ВЭЖХ, и более низкие уровни мутности и числа видимых частиц. Существенно лучшая устойчивость отмечена в присутствии L-метионина по сравнению с композициями без стабилизатора. Композиции с L-метионином имеют более низкие уровни AP-SEC, более последовательные результаты DLS, более низкую мутность и меньшее количество частей перед главным пиком по ОФ-ВЭЖХ после 8 недель хранения в условиях ускоренного испытания при 25°C и 40°C. ЭДТК не выгодна из-за возрастных изменений при AP-SEC, DLS, щелочных вариантов по СЕХ и части перед главным пиком по ОФ-ВЭЖХ. Цистеин ведет к возрастанию количества почти всех продуктов агрегации и разложения, как показывают различные аналитические методы.

**Фигура 1** показывает выбранные признаки качества после хранения в различных условиях. Наблюдают, что только L-метионин оказывает сообразное стабилизирующее действие на секукиномаб. Стабилизирующее действие особенно наблюдается на части перед главным пиком по ОФ-ВЭЖХ (**фигура 1B**) и AP-SEC (**фигура 1D**). Дополнительные действия также наблюдают на мутность и гидродинамический радиус по DLS. Действие различных концентраций на качественные признаки секукиномаба оценивают в последующих исследованиях.

**Фигура 2** отображает изменение части перед главным пиком по

ОФ-ВЭЖХ во время хранения при 25°C при концентрации секукинумаба 25 мг/мл, концентрации трегалозы 225 мМ и концентрации полисорбата 80 0,02% в гистидиновом буфере, рН 5,8, в присутствии и в отсутствие L-метионина. Композиции наливают в 2-мл флаконы и хранят до 3 месяцев в стрессовых условиях. Темная пунктирная линия представляет подобранную прямую для величин, полученных для композиции, содержащей 0 мМ L-метионина, серая пунктирная линия представляет подобранную прямую для величин, полученных для композиции, содержащей 10 мМ L-метионина. Отчетливо наблюдают сниженную кинетику разложения в присутствии L-метионина.

Также наблюдают эффект зависимости от концентрации для композиций, содержащих 150 мг/мл секукинумаба. Исследование проводят с композициями, содержащими трегалозу в концентрациях от 200 мМ до 300 мМ, полисорбата 80 от 0,01% до 0,04%, а также L-метионина от 0 мМ до 10 мМ. Композиции наливают в 1-мл PFS и хранят до трех месяцев в условиях длительного хранения, ускоренного хранения и хранения в стрессовых условиях. Проверяют физическую (AP-SEC, DLS, субвидимые частицы методом светотени и видимые частицы, мутность) и химические (чистота АО СЕХ, чистота по ОФ-ВЭЖХ, цвет) устойчивость, а также биологическую активность.

**Фигура 3** отображает часть перед главным пиком по ОФ-ВЭЖХ после 6 месяцев хранения при 25°C. В то время как действие трегалозы и полисорбата 80 на разложение является незначительным, явно уменьшенные уровни разложения наблюдают в присутствии L-метионина. Такой эффект является более выраженным при сравнении устойчивости секукинумаба с L-метионином и без него, но также наблюдают зависимость от концентрации в интервале 2,5–10 мМ L-метионина.

Такое же стабилизирующее действие L-метионина наблюдают после длительного хранения (до 30 месяцев) в композициях, содержащих 150 мг/мл секукинумаба, 200 мМ трегалозы, 0,02% полисорбата 80 в гистидиновом буфере, рН 5,8, налитых в 1-мл PFS. **Фигура 4** отображает AP-SEC (А) и часть перед главным пиком

по ОФ-ВЭЖХ (В) во время 30 месяцев хранения при 5°C. Черная штриховая линия представляет подобранную прямую для величин, полученных для композиции, содержащей 5 мМ L-метионина, серая пунктирная линия представляет подобранную прямую для величин, полученных для композиции, содержащей 0 мМ L-метионина. Отчетливо наблюдают сниженную кинетику разложения в присутствии L-метионина.

Зависимость от концентрации также подтверждается в исследовании, в котором оценивают влияние концентрации L-метионина (0-20 мМ) на устойчивость секукиномаба (150 мг/мл, 200 мМ трегалозы, 0,02% полисорбата 80 в гистидиновом буфере, pH 5,8). Различные композиции наливают в PFS и хранят в условиях длительного хранения и ускоренного хранения в течение 13 месяцев и 30 месяцев (только 5°C). Устойчивость секукиномаба оценивают рядом выбранных аналитических методов, которые отмечены как показывающие стабильность в предыдущих проверках (чистота по ОФ-ВЭЖХ, чистота по SEC, мутность). Из измерений мутности нельзя сделать вывод о четкой тенденции. Однако четкую зависимость от концентрации L-метионина показывают AP-SEC и часть перед главным пиком по ОФ-ВЭЖХ. Такой эффект незначителен при условиях хранения в реальном времени, но явные различия наблюдают при 25°C (фигура 5).

После 13 месяцев хранения при 25°C уровни агрегатов по SEC в композиции без L-метионина повышаются на 4,5% от начального уровня <1% в t 0. При добавлении L-метионина в композицию такое повышение образования агрегатов снижается до 3,5% в случае 2,5 мМ, 3,0% в случае 5 мМ и 2,2% в случае 20 мМ L-метионина. При 5°C такое различие между композицией без L-метионина и композицией с 20 мМ L-метионина составляет только 0,3%. Часть перед главным пиком по ОФ-ВЭЖХ в образце, содержащем 0 мМ L-метионина, на протяжении 13 месяцев хранения при 25°C возрастает от 9,1% до 42,7%. Такое возрастание частей перед главным пиком по ОФ-ВЭЖХ в образцах, содержащих L-метионин, снижается до 29,4% в случае 2,5 мМ, 37,8% в случае 5,0 мМ и 34,5% в случае 20 мМ L-метионина. В итоге наблюдают пониженные уровни AP-SEC и части перед главным

пиком по ОФ-ВЭЖХ в присутствии L-метионина во время хранения при 5°C и 25°C в PFS. Более заметные различия наблюдают при хранении при 25°C, но они также обнаруживаются после хранения при 5°C.

Уже при уровне L-метионина 2,5 мМ степень разложения заметно снижается по сравнению с композициями без L-метионина. Это также подтверждается в дальнейшем исследовании при сравнении устойчивости секукинумаба в присутствии 0, 2,5 и 5,0 мМ L-метионина. Не наблюдают различий между композициями, содержащими 2,5 мМ и 5,0 мМ L-метионина, по чистоте по ОФ-ВЭЖХ, чистоте по SEC, а также мутности после 24 месяцев хранения в предполагаемых условиях хранения.

Добавление L-метионина в жидкие композиции антител во флаконах также снижает AP-SEC и примеси по CE-SDS (в невозстанавливающих условиях) (**фигура 6**). Представляет интерес, что наблюдают зависимость от уменьшенной концентрации L-метионина для жидких композиций антител во флаконах с 25 мг/мл секукинумаба (**фигура 6**), что предполагает, что более низкая концентрация L-метионина является достаточной для сохранения целостности и устойчивости антитела в композициях, имеющих более низкую концентрацию антител.

Из всех данных описанных выше экспериментов следует, что концентрация метионина по меньшей мере 2,5 мМ (предпочтительно примерно 5 мМ) является идеальной для жидких композиций секукинумаба и превосходной с другими стабилизаторами группы 2.

### **1.1.2. Пример 2. Содержание кислорода в свободном пространстве**

#### **1.1.2.1. Первичная упаковка PFS**

Влияние содержания кислорода в свободном пространстве на устойчивость секукинумаба оценивают при концентрации секукинумаба 150 мг/мл и в композиции с 200 мМ трегалозы, 5 мМ L-метионина, 0,02% полисорбата 80 в гистидиновом буфере, pH 5,8. Композиции наливают в 1-мл PFS от различных поставщиков PFS. Содержание кислорода в свободном пространстве составляет или между 13% и 15% (объем заполнения 0,5 мл) или между 3-4% (объем заполнения 0,5 мл)/7-8% (объем заполнения 1,0 мл),

соответственно. Образцы хранят до шести месяцев в условиях длительного и ускоренного хранения и хранения в стрессовых условиях. Выбранные композиции хранят до 24 месяцев в условиях длительного хранения. Устойчивость секукиномаба проверяют по чистоте по SEC, чистоте по ОФ-ВЭЖХ, чистоте по СЕХ, чистоте по СЕ-SDS (в невосстанавливающих условиях), мутности, цвету, свободным SH-группам, биологической активности, субвидимым частицам в режиме светотени и видимым частицам.

Воздействие различных уровней содержания кислорода в свободном пространстве, колеблющихся от 6% до 21% (т.е., без очистки) на признаки качества секукиномаба (мутность, чистота по SEC, чистота по ОФ-ВЭЖХ, чистота по СЕ-SDS (в невосстанавливающих условиях), свободные SH-группы, биологическая активность, субвидимые частицы в режиме светотени и видимые частицы, цвет) также оценивают во время хранения при 5°C в течение 12 месяцев, а также в ускоренных условиях (25°C) в течение 6 месяцев и в стрессовых условиях (40°C) в течение 3 месяцев. Исследования выполняют при концентрации секукиномаба 150 мг/мл и в композиции с 200 мМ трегалозы, 5 мМ L-метионина, 0,02% полисорбата 80 в гистидиновом буфере, pH 5,8. Образцы наливают в PFS и продувают сертифицированными кислородными смесями для получения заданного содержания кислорода в свободном пространстве.

Со временем хранения не наблюдают ни изменения в мутности, ни существенного влияния содержания кислорода в свободном пространстве на субвидимые частицы в режиме светотени, цвет и свободные SH-группы, и различия между образцами с различным содержанием кислорода в свободном пространстве находятся в пределах разброса метода. Концентрация метионина не изменяется релевантно во время хранения при 5°C и 25°C и отмечается как 4,9 мМ (начальная величина 4,9–5,0 мМ) после 12 месяцев хранения при 5°C несмотря на содержание кислорода в свободном пространстве.

В отличие от более ранних наблюдений авторов изобретения, которые показывали относительно существенное влияние содержания кислорода в свободном пространстве на продукты агрегации по SEC,

в этом эксперименте отмечают только небольшие изменения во время хранения до 12 месяцев в предполагаемых условиях хранения (5°C) даже в эталонном образце без продувки. Не отмечают релевантных различий в чистоте и агрегатах по SEC между образцами с различными уровнями кислорода для различных моментов проверки устойчивости (до 12 месяцев хранения при 2-8°C и до 6 месяцев хранения при 25°C) (**фигура 8**). Напротив, авторы изобретения отметили возрастание в основной величине чистоты по ОФ-ВЭЖХ с возрастанием содержания кислорода в свободном пространстве. Это наблюдали при 5°C (после 12 месяцев хранения) (данные не приводятся) и при 25°C) (**фигура 9**). Новые пики не появляются.

#### 1.1.2.2. Первичная упаковка флаконы

Композиции наливают в 2-мл флаконы и хранят в течение 12 месяцев в холодильнике и до 3 месяцев в условиях ускоренного и хранения в стрессовых условиях. В **таблицах 5-7** суммированы изменения части перед главным пиком по ОФ-ВЭЖХ и SEC-AP во время хранения при 5°C, 25°C и 40°C при концентрации секукиномаба 25 мг/мл, концентрации трегалозы 225 мМ и концентрации полисорбата 80 0,02% в гистидиновом буфере, рН 5,8, в присутствии 5 мМ L-метионина и в его отсутствие.

Содержание кислорода в свободном пространстве	Часть перед главным пиком, ОФ-ВЭЖХ (%)			AP-SEC (%)		
	T0	6 М	12 М	T0	6 М	12 М
5%	-	-	4,5	-	-	0,81
10%	8,2	3,4	6,1	0,84	0,78	0,86
20%	-	4,2	7,1	-	0,79	0,91

**Таблица 5.** Результаты ОФ-ВЭЖХ и SEC для жидкости с 25 мг/мл секукиномаба во флаконе после 6 и 12 месяцев хранения при 5°C. Композиция: 25 мг/мл секукиномаба, 225 мМ трегалозы, 5 мМ L-метионина, 0,02% PS80.

Содержание кислорода в свободном пространстве	Часть перед главным пиком, ОФ-ВЭЖХ (%)			AP-SEC (%)		
	25°C	40°C		25°C	40°C	
	T0	3 М	3 М	T0	3 М	3 М
5%	-	17,9	40,6	-	1,10	1,80
10%	8,0	18,4	43,1	0,84	1,00	2,00
20%	-	20,6	46,2	-	0,93	2,50

**Таблица 6.** Результаты ОФ-ВЭЖХ и SEC для жидкости с 25 мг/мл секукиномаба во флаконе после 3 месяцев хранения при 25°C и 40°C. Композиция: 25 мг/мл секукиномаба, 225 мМ трегалозы, 5 мМ L-метионина, 0,02% PS80.

Содержание кислорода в свободном пространстве	Часть перед главным пиком, ОФ-ВЭЖХ (%)			AP-SEC (%)		
	T0	6 М	12 М	T0	6 М	12 М
5%	8,3	3,8	6,1	0,84	0,82	0,91

**Таблица 7.** Результаты ОФ-ВЭЖХ и SEC для жидкости с 25 мг/мл секукиномаба во флаконе после 6 и 12 месяцев хранения при 5°C. Композиция: 25 мг/мл секукиномаба, 225 мМ трегалозы, 0 мМ L-метионина, 0,02% PS80.

Содержание кислорода в свободном пространстве	Часть перед главным пиком, ОФ-ВЭЖХ (%)			AP-SEC (%)		
	25°C	40°C		25°C	40°C	
	T0	3 М	3 М	T0	3 М	3 М
5%	-	20,9	44,6	-	1,10	2,60
10%	8,3	21,4	46,7	0,84	1,10	2,90
20%	-	25,5	50,9	-	1,30	3,50

**Таблица 8.** Результаты ОФ-ВЭЖХ и SEC для жидкости с 25 мг/мл

секукинумаба во флаконе после 3 месяцев хранения при 25°C и 40°C. Композиция: 25 мг/мл секукинумаба, 225 мМ трегалозы, 05 мМ L-метионина, 0,02% PS80.

Воздействие содержания кислорода в свободном пространстве на устойчивость жидкости с 25 мг/мл секукинумаба во флаконе видно по части перед главным пиком по ОФ-ВЭЖХ после 12 месяцев хранения при 5°C (4,5% при содержании кислорода в свободном пространстве 5% против 7,1% при содержании кислорода в свободном пространстве 20%, см. **таблицу 5**), после 3 месяцев хранения при 25°C (17,9% при содержании кислорода в свободном пространстве 5% против 20,6% при содержании кислорода в свободном пространстве 20%, см. **таблицу 6**) и после 3 месяцев хранения при 40°C (40,6% при содержании кислорода в свободном пространстве 5% против 46,2% при содержании кислорода в свободном пространстве 20%, см. **таблицу 6**). Такую же тенденцию можно заметить для AP-SEC после 3 месяцев хранения при 40°C (1,8% при содержании кислорода в свободном пространстве 5% против 2,5% при содержании кислорода в свободном пространстве 20%, см. **таблицу 6**). Кроме того, концентрация L-метионина оказывает дополнительное влияние в комбинации с более низким содержанием кислорода. Например, при сравнении данных для части перед главным пиком по ОФ-ВЭЖХ в композициях с содержанием кислорода в свободном пространстве 5% после 12 месяцев хранения при 5°C находят 6,1% (**таблица 7**) для композиции, не содержащей L-метионин, по сравнению с 4,5% (**таблица 5**) для композиции с 5 мМ L-метионина. Такое же различие видно для части перед главным пиком по ОФ-ВЭЖХ после 3 месяцев хранения при 25°C (кислорода 5-20%: 20,9-25,5% в отсутствие L-метионина (**таблица 8**) против 17,9-25,5% в присутствии 5 мМ L-метионина (**таблица 6**)), и после 3 месяцев хранения при 40°C (кислорода 5-20%: 44,6-50,9% в отсутствие L-метионина (**таблица 8**) против 40,6-46,2% в присутствии 5 мМ L-метионина (**таблица 6**)).

На основании описанных выше экспериментов продувка азотом для снижения содержания кислорода в свободном пространстве до менее примерно 12% рассматривается как благоприятная для

повышения устойчивости жидкой композиции как в PFS, так и во флаконах (при оценке части перед главным пиком методом ОФ-ВЭЖХ).

### 1.1.3. Пример 3. Взаимосвязь концентрации L-метионина и содержания кислорода в свободном пространстве

В дальнейшем исследовании оценивают взаимосвязь между концентрацией L-метионина и содержанием кислорода в свободном пространстве. Получают композиции, содержащие L-метионин в интервале 2,5–7,5 мМ, и с содержанием кислорода в свободном пространстве между 3 и 9%. Композиции наливают в PFS и хранят в условиях длительного хранения и ускоренного хранения в течение 6 месяцев. Релевантные признаки качества секукинумаба (чистота по SEC, чистота по ОФ-ВЭЖХ, чистота по СЕХ, свободные SH-группы, биологическая активность, субвидимые и видимые частицы в режиме светотени, мутность и цвет раствора) проверяют после 3 и 6 месяцев хранения. **Фигура 16** отображает чистоту по AP-SEC после 6 месяцев хранения при 25°C как функцию концентрации L-метионина и содержания кислорода в свободном пространстве. Не наблюдают взаимосвязи в испытываемом интервале, когда проводят анализ на чистоту с использованием AP-SEC.

В другом исследовании оценивают действие пониженных содержания кислорода и концентрации L-метионина при концентрации секукинумаба 150 мг/мл. Композиции включают 270 мМ маннита, 0,04% полисорбата 80 и различные концентрации L-метионина, колеблющиеся от 0,15% до 2%. Композиции наливают в 2-мл стеклянные флаконы или с продувкой азотом или без нее и хранят в условиях длительного хранения, ускоренного хранения и в стрессовых условиях хранения до 6 месяцев.

**Фигура 11** отображает часть перед главным пиком по ОФ-ВЭЖХ до 36 месяцев хранения в композициях, содержащих 0,15% (10 мМ), 1% (67 мМ) или 2% (134 мМ) L-метионина и или с азотом или с воздухом в свободном пространстве. Как наблюдали ранее, часть перед главным пиком по ОФ-ВЭЖХ имеет более низкие уровни в композициях, содержащих большие количества L-метионина. Та же композиция показывает более низкие уровни части перед главным пиком по ОФ-ВЭЖХ, когда свободное пространство очищено азотом.

На основании общих результатов различных экспериментов с использованием как флаконов, так и PFS в качестве первичной упаковки, содержание кислорода в свободном пространстве менее примерно 12% в комбинации с концентрацией L-метионина по меньшей мере примерно 2,5 мМ является идеальным для жидких композиций с секукинумабом.

#### 1.1.4. Пример 4: pH

Влияние pH на устойчивость секукинумаба сначала оценивают при концентрации 10 мг/мл в смеси 100 мМ лимонной кислоты/натрийфосфатный буфер, содержащей 90 мМ хлорида натрия, при pH в интервале от 4,0 до 7,5. Образцы хранят в течение 3 недель при 5°C и 40°C. Параллельно проверяют устойчивость секукинумаба после пяти циклов замораживание/оттаивание от  $\leq -60^\circ\text{C}$  до комнатной температуры.

Оптимальный pH для секукинумаба изменяется в зависимости от анализируемого пути разложения. Агрегация и протеолиз, определяемые по чистоте по SEC, чистоте по SDS-PAGE (в условиях восстановления) и средней молекулярной массе по LLS, являются минимальными при pH 5,7-6,2, в то время как оптимальный pH для чистоты по SEC составляет 5,3. Активный секукинумаб содержит один свободный цистеиновый остаток на каждой легкой цепи, таким образом, ожидается 2 моля тиольных групп на моль секукинумаба. Так как пониженный уровень свободных SH-групп коррелирует с утратой биологической активности секукинумаба, свободные SH-группы определяют количественно с использованием способа на основе реагента Элмана. Только при pH 4,3 наблюдают несколько меньшую величину 1,94 моль/моль. Устойчивость секукинумаба к замораживанию/оттаиванию, проверенная по чистоте по SEC и средней молекулярной массе по LLS, является максимальной при pH 5,3-5,7. В дальнейшем для получения композиций секукинумаба выбирают pH 5,8.

Дальнейшие исследования о влиянии pH на устойчивость секукинумаба проводят в PFS с использованием подхода DoE. Влияние pH в интервале 5,2-5,8 оценивают при концентрации секукинумаба 150 мг/мл. Композиции помещают для исследований

устойчивости на 2 месяца в условия длительного хранения (5°C), ускоренного хранения (25°C) и хранения в стрессовых условиях (40°C) и оценивают в отношении физической устойчивости (AP-SEC, DLS, мутность, видимые частицы и субвидимые частицы в режиме светотени), химической устойчивости (чистота по СЕХ, чистота по ОФ-ВЭЖХ, цвет) и индикаторов биологической активности (активность по Cys-СЕХ, свободные SH-группы). Кроме того, к композициям, налитым в 2-мл флаконы, применяют замораживание-оттаивание (5 циклов от -20°C до комнатной температуры) и напряжение при встряхивании (150 об/мин в течение одной недели). Находят, что величины рН в исследуемом интервале не влияют существенно на устойчивость секукинумаба (AP-SEC, DLS, щелочные варианты по СЕХ, чистота по ОФ-ВЭЖХ). Результаты более ранних исследований подтверждаются в отношении рН 5,8 как идеального (AP-SEC, DP-SEC и часть перед главным пиком по ОФ-ВЭЖХ) (**фигура 12**).

Влияние рН также оценивают в композициях, содержащих секукинумаб в концентрации 150 мг/мл, 200 мМ трегалозы, L-метионин в интервале 2,5-7,5 мМ и с содержанием кислорода в свободном пространстве между 3 и 9%. Изменяют рН гистидинового буфера между 5,4 и 6,2. Композиции наливают в PFS и хранят в условиях длительного и ускоренного хранения в течение 6 месяцев. Релевантные признаки качества антител (чистота по SEC, чистота по ОФ-ВЭЖХ, чистота по СЕХ, свободные SH-группы, биологическая активность, субвидимые частицы в режиме светотени, видимые частицы, мутность и цвет раствора) проверяют после 3 и 6 месяцев хранения. **Фигура 13** отображает влияние рН на качество антител после хранения при 5°C. Повышенную мутность, AP-SEC и кислотные варианты по СЕХ, а также сниженную чистоту по SEC наблюдают при более высоких величинах рН, что дополнительно подтверждает наблюдения при начальном скрининге.

Из всех результатов различных экспериментов следует, что интервал рН от примерно 5,2 до примерно 6,2 является идеальным для жидких композиций секукинумаба.

## 1.2. Часть 2. Подробный анализ эксципиентов с меньшим

**влиянием на устойчивость секукиномаба в жидкости (стабилизатор, поверхностно-активное вещество и буфер)**

**1.2.1. Пример 5. Выбор стабилизатора оказывает слабое влияние на устойчивость**

Первоначальная разработка композиций для жидкой лекарственной формы сосредоточилась на оценке различных стабилизаторов в отношении образования растворимых и нерастворимых агрегатов секукиномаба (AP-SEC, чистота по SDS-PAGE, режим светотени), химической устойчивости (чистота по ОФ-ВЭЖХ, чистота по СЕХ, цвет) и биологической активности (активность по Cys-СЕХ, свободные SH-группы, биологическая активность) во время хранения в условиях длительного хранения, а также ускоренного хранения и в стрессовых условиях хранения.

Стабилизаторы подразделяют на три различных класса. Группа I включает неионные (маннит, дигидрат трегалозы) и ионные (хлорид натрия и гидрохлорид аргинина) стабилизаторы. Все стабилизаторы группы I обеспечивают благоприятное действие по сравнению с их отсутствием. Однако установлено, что неионные стабилизаторы (трегалоза и маннит) лучше стабилизируют молекулу, что определено по более низким уровням агрегатов и более высокой активности по Cys-СЕХ.

Основываясь на выводах исследований на первоначальной стадии разработки композиций, проводят дальнейшие исследования в PFS с использованием подхода DoE. Оценивают действие стабилизаторов группы I (глицина, маннита, дигидрата трегалозы, хлорида натрия). Композиции наливают в предварительно заполняемые шприцы и помещают на 2 месяца для исследования устойчивости в условия длительного и ускоренного хранения и в стрессовые условия, и оценивают в отношении физической устойчивости (AP-SEC, DLS, мутность, видимые частицы и субвидимые частицы в режиме светотени), химической устойчивости (чистота по СЕХ, чистота по ОФ-ВЭЖХ, цвет) и индикаторов биологической активности (активность по Cys-СЕХ, свободные SH-группы). Кроме того, к композициям, налитым в 2-мл флаконы, применяют замораживание-оттаивание (5 циклов от  $-20^{\circ}\text{C}$  до

комнатной температуры) и напряжение при встряхивании (150 об/мин в течение одной недели). Что касается стабилизаторов класса I, подтверждаются наблюдения более ранних проверок: 1) все стабилизаторы группы I обеспечивают благоприятное действие по сравнению с их отсутствием; и 2) найдено, что неионные стабилизаторы лучше стабилизируют белок секукинумаб (**фигура 14**). Это особенно заметно по чистоте по SEC, чистоте по ОФ-ВЭЖХ и полидисперсности по DLS. При сравнении различных неионных стабилизаторов релевантного эффекта не наблюдается.

Далее, авторы изобретения идентифицировали идеальную концентрацию стабилизатора класса I (200–300 мМ дигидрата трегалозы). Образцы наливают в PFS и хранят до трех месяцев в условиях длительного и ускоренного хранения. Проверяют физическую (AP-SEC, DLS, субвидимые частицы в режиме светотени, видимые частицы, мутность) и химическую (чистота по СЕХ, чистота по ОФ-ВЭЖХ, цвет) устойчивость секукинумаба, а также биологическую активность. Не наблюдают релевантного различия в признаках качества секукинумаба с изменением концентраций трегалозы (**фигура 3**).

#### **1.2.2. Пример 6. Выбор поверхностно-активного вещества оказывает слабое влияние на устойчивость**

Первоначальная разработка композиции для содержащей 150 мг/мл жидкой композиции концентрировалась на оценке различных эксципиентов (например, стабилизаторов и поверхностно-активных веществ) в отношении образования растворимых и нерастворимых агрегатов секукинумаба (AP-SEC, чистота по SDS-PAGE, режим светотени), химической устойчивости (чистота по ОФ-ВЭЖХ, чистота по СЕХ, цвет) и биологической активности (активность по Cys-CEX, свободные SH-группы, биологическая активность) во время хранения в условиях длительного хранения, а также ускоренного хранения и в стрессовых условиях хранения. Эксципиенты подразделяют на три различных класса: группа III включает поверхностно-активные вещества полисорбат 20 и 80. Не обнаруживаются различия между полисорбатом 20 и 80 в концентрации 0,04% при сравнении с композициями без поверхностно-активного вещества во время хранения в состоянии покоя.

Основываясь на выводах исследований на первоначальной стадии разработки композиций, проводят дальнейшие исследования в PFS с использованием подхода DoE. Оценивают действие поверхностно-активного вещества (полисорбата 20, полисорбата 80, полуксамера 188, в отсутствие). Композиции наливают в PFS и помещают на 2 месяца для исследования устойчивости в условия длительного и ускоренного хранения и в стрессовые условия, и оценивают в отношении физической устойчивости (AP-SEC, DLS, мутность, видимые частицы и субвидимые частицы в режиме светотени), химической устойчивости (чистота по СЕХ, чистота по ОФ-ВЭЖХ, цвет) и индикаторов биологической активности (активность по Cys-СЕХ, свободные SH-группы). Кроме того, к композициям, налитым в 2-мл флаконы, применяют замораживание-оттаивание (5 циклов от  $-20^{\circ}\text{C}$  до комнатной температуры) и напряжение при встряхивании (150 об/мин в течение одной недели). Присутствие поверхностно-активного вещества является благоприятным, так как наблюдают более низкие уровни мутности и числа видимых и субвидимых частиц в режиме светотени. Однако имеется только слабое влияние типа поверхностно-активного вещества (**фигура 15**).

Затем авторы изобретения идентифицировали идеальную концентрацию поверхностно-активного вещества группы III (0,01-0,04% полисорбата 80). Образцы наливают в PFS и хранят до трех месяцев в условиях длительного и ускоренного хранения. Проверяют физическую (AP-SEC, DLS, субвидимые частицы в режиме светотени, видимые частицы, мутность) и химическую (чистота по СЕХ, чистота по ОФ-ВЭЖХ, цвет) устойчивость секукиномаба, а также биологическую активность. Не наблюдают заметного влияния концентраций полисорбата 80 на признаки качества секукиномаба при хранении в состоянии покоя (**фигура 3**), а также после 1 недели встряхивания при 150 об/мин. Полидисперсность по DLS и число субвидимых частиц в режиме светотени несколько возрастают при более высокой концентрации поверхностно-активного вещества; поэтому устанавливают концентрацию полисорбата 80 0,02% для того, чтобы сохранить предел безопасности для самой низкой

оцененной концентрации.

### **1.2.3. Пример 5. Выбор буфера оказывает небольшое влияние на устойчивость**

Влияние вида буфера (цитратный, гистидиновый, сукцинатный, ацетатный) оценивают в PFS с использованием подхода DoE. Композиции наливают в PFS и помещают на 2 месяца для исследования устойчивости в условия длительного и ускоренного хранения и в стрессовые условия, и оценивают в отношении физической устойчивости (AP-SEC, DLS, мутность, видимые и субвидимые частицы в режиме светотени), химической устойчивости (чистота по СЕХ, чистота по ОФ-ВЭЖХ, цвет) и индикаторов биологической активности (активность по Cys-СЕХ, свободные SH-группы). Кроме того, к композициям, налитым в 2-мл флаконы, применяют замораживание-оттаивание (5 циклов от  $-20^{\circ}\text{C}$  до комнатной температуры) и напряжение при встряхивании (150 об/мин в течение одной недели). Влияния типа буфера не наблюдают. **Фигура 16** показывает выбранные признаки качества.

### **1.2.4. Пример 6. Концентрация антител в испытываемом интервале оказывает небольшое влияние на устойчивость**

Влияние концентрации секукинумаба на признаки качества жидкой композиции оценивают в интервале 124,5–175,5 мг/мл. Композиции также содержат 200 мМ трегалозы, 5 мМ L-метионина и 0,02% полисорбата 80 в гистидиновом буфере, рН 5,8. Композиции наливают в PFS и хранят в условиях длительного и ускоренного хранения в течение 6 месяцев. Релевантные признаки качества антител (чистота по SEC, чистота по ОФ-ВЭЖХ, чистота по СЕХ, свободные SH-группы, биологическая активность, субвидимые частицы в режиме светотени, видимые частицы, мутность и цвет раствора) проверяют после 3 и 6 месяцев хранения. В интервале 25 мг/мл – 150 мг/мл релевантного влияния концентрации секукинумаба на признаки качества жидкой композиции не наблюдают (данные не приводятся).

## **1.3. Часть 3. Свойства предпочтительных конечных товарных композиций**

Предпочтительный фармацевтический продукт секукинумаба



	Чистота по SEC			Чистота по СЕХ			Чистота по ОФ-ВЭЖХ	
	Чистота/номер [%]	AP-SEC [%]	DP-SEC [%]	Главный вариант [%]	Сумма щелочных вариантов [%]	Сумма кислотных вариантов [%]	Главный вариант [%]	Сумма частей до главного пика [%]
<b>Условия хранения</b>								
Начальный анализ	99,1	0,90	<0,10	78,2	11,3	10,5	88,7	2,2
-20°C 1,5 месяца	99,0	0,92	<0,10	77,5	11,8	10,6	89,4	1,8
5°C ± 3°C 1,5 месяца	99,0	0,96	<0,10	77,2	12,0	10,7	89,4	1,9
3 месяца	98,7	1,0	0,20	77,5	12,1	10,3	88,7	1,9
6 месяцев	98,8	1,1	<0,10	77,5	11,5	10,9	86,5	4,1*
9 месяцев	98,7	1,2	0,10	76,7	12,4	10,8	88,2	2,1
12 месяцев	98,5	1,3	0,16	76,4	12,6	10,9	88,6	3,0
18 месяцев	98,2	1,3	0,43	73,8	14,7	11,5	84,8	6,8*
24 месяца	97,9	1,4	0,56	76,5	11,5	11,9	87,3	4,3
25°C/60%RH 1,5 месяца	98,6	1,2	0,14	72,3	14,6	12,7	87,9	3,8
3 месяца	97,5	1,6	0,83	68,6	15,9	15,4	81,1	9,9
6 месяцев	96,2	2,0	1,7	62,8	16,2	21,0	76,1	15,3
30°C/75%RH 1,5 месяца	97,6	1,5	0,90	67,9	16,4	15,5	86,7	5,1
3 месяца	96,5	2,0	1,4	60,9	17,2	21,8	77,1	14,0
6 месяцев	94,1	3,0	2,8	50,6	17,4	31,9	60,3	22,0

Таблица 10. Чистота по методу CE-SDS (в невозстанавливающих условиях) и примеси по методу SDS-PAGE (в условиях восстановления)

Условия хранения		Чистота по CE-SDS (в невозст. условиях)	Примеси по SDS-PAGE (в условиях восстановления)
		Чистота/Мономер [%]	Сумма примесей [%]
	Начальный анализ	97,5	0,60
-20°C	1,5 месяца	97,3	0,92
5°C±3°C	1,5 месяца	97,2	0,91
	3 месяца	97,4	0,63
	6 месяцев	97,4	0,57
	9 месяцев	97,5	0,66

Условия хранения		Чистота по CE-SDS (в невосст. условиях)	Примеси по SDS-PAGE (в условиях восстановления)
		Чистота/Мономер [%]	Сумма примесей [%]
	12 месяцев	97,4	0,58
	18 месяцев	97,1	0,63
	24 месяцев	97,2	0,61
25°C/60%RH	1,5 месяца	97,1	1,3
	3 месяца	96,7	0,86
	6 месяцев	95,3	1,1
30°C/75%RH	1,5 месяца	96,8	1,1
	3 месяца	95,6	1,3
	6 месяцев	94,0	1,9

**Таблица 11.** Эффективность и количество. \*Образцы испытывают >30 дней после даты срока годности, такое отклонение не оказывает воздействия на результаты анализа эффективности.

Условия хранения		Ингибирование IL-16 из хондроцитов C-20/A4 [%]	Анализ белка по УФ-поглощению
		Эффективность [%]	Количество [мг/мл]
	Начальный анализ	107	147,9
-20°C	1,5 месяца	107	149,6
5°C±3°C	1,5 месяца	92	149,4
	3 месяца	92*	149,5
	6 месяцев	102*	149,6
	9 месяцев	103	149,5
	12 месяцев	90*	149,0
	18 месяцев	88	147,9
	24 месяца	98	149,4
25°C/60%RH	1,5 месяца	100	149,4
	3 месяца	107*	149,7
	6 месяцев	94*	149,6
30°C/75%RH	1,5 месяца	90	149,1
	3 месяца	119*	149,3
	6 месяцев	85*	149,4

2017-07-07-01-53-17-304.txt  
список последовательностей

<110> Novartis AG  
Serno-Schersch, Kathrin  
Joerg, Susanne

<120> ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЕ ПРОДУКТЫ И УСТОЙЧИВЫЕ ЖИДКИЕ КОМПОЗИЦИИ  
АНТИТЕЛ К IL-17

<130> 56417 FF

<140> При сем  
<141> При сем

<150> 62/095,210  
<151> 2014-12-22

<160> 15

<170> PatentIn, версия3.5

<210> 1  
<211> 5  
<212> БЕЛОК  
<213> искусственная

<220>  
<223> CDR1 = гипервариабельный участок 1 тяжелой цепи AIN457

<400> 1

Asn Tyr Trp Met Asn  
1                    5

<210> 2  
<211> 17  
<212> БЕЛОК  
<213> ИСКУССТВЕННАЯ

<220>  
<223> CDR2 = гипервариабельный участок 2 тяжелой цепи AIN457

<400> 2

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

Gly

<210> 3  
<211> 18  
<212> БЕЛОК  
<213> ИСКУССТВЕННАЯ

<220>  
<223> CDR3 = гипервариабельный участок 3 тяжелой цепи AIN457

<400> 3

Asp Tyr Tyr Asp Ile Leu Thr Asp Tyr Tyr Ile His Tyr Trp Tyr Phe  
1                   5                   10                   15

Asp Leu

<210> 4  
<211> 12  
<212> БЕЛОК  
<213> ИСКУССТВЕННАЯ

<220>  
<223> CDR1' = гипервариабельный участок 1 легкой цепи AIN457

<400> 4

Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser Tyr Leu Ala  
1                   5                   10

<210> 5  
<211> 7  
<212> БЕЛОК  
<213> ИСКУССТВЕННАЯ

<220>  
<223> CDR2' = гипервариабельный участок 2 легкой цепи AIN457

<400> 5

Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr  
1                   5

<210> 6  
<211> 9  
<212> БЕЛОК  
<213> ИСКУССТВЕННАЯ

<220>

<223> CDR3' = гипервариабельный участок 3 легкой цепи AIN457

<400> 6

Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Pro Cys Thr  
1 5

<210> 7

<211> 381

<212> ДНК

<213> HOMO SAPIENS

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(381)

<400> 7

gag gtg cag ttg gtg gag tct ggg gga ggc ttg gtc cag cct ggg ggg 48  
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly  
1 5 10 15

tcc ctg aga ctc tcc tgt gca gcc tct gga ttc acc ttt agt aac tat 96  
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr  
20 25 30

tgg atg aac tgg gtc cgc cag gct cca ggg aaa ggg ctg gag tgg gtg 144  
Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
35 40 45

gcc gcc ata aac caa gat gga agt gag aaa tac tat gtg ggc tct gtg 192  
Ala Ala Ile Asn Gln Asp Gly Ser Glu Lys Tyr Tyr Val Gly Ser Val  
50 55 60

aag ggc cga ttc acc atc tcc aga gac aac gcc aag aac tca ctg tat 240  
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr  
65 70 75 80

ctg caa atg aac agc ctg aga gtc gag gac acg gct gtg tat tac tgt 288  
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Val Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
85 90 95

gtg agg gac tat tac gat att ttg acc gat tat tac atc cac tat tgg 336  
Val Arg Asp Tyr Tyr Asp Ile Leu Thr Asp Tyr Tyr Ile His Tyr Trp  
100 105 110

tac ttc gat ctc tgg ggc cgt ggc acc ctg gtc act gtc tcc tca 381  
Tyr Phe Asp Leu Trp Gly Arg Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser  
115 120 125

<210> 8  
<211> 127  
<212> БЕЛОК  
<213> HOMO SAPIENS

<400> 8

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

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

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

Ala Ala Ile Asn Gln Asp Gly Ser Glu Lys Tyr Tyr Val Gly Ser Val  
50 55 60

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

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

Val Arg Asp Tyr Tyr Asp Ile Leu Thr Asp Tyr Tyr Ile His Tyr Trp  
100 105 110

Tyr Phe Asp Leu Trp Gly Arg Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser  
115 120 125

<210> 9  
<211> 327  
<212> ДНК  
<213> HOMO SAPIENS

<220>  
<221> CDS  
<222> (1)..(327)

<400> 9

2017-07-07-01-53-17-304.txt

gaa att gtg ttg acg cag tct cca ggc acc ctg tct ttg tct cca ggg 48  
 Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly  
 1 5 10 15

gaa aga gcc acc ctc tcc tgc agg gcc agt cag agt gtt agc agc agc 96  
 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser  
 20 25 30

tac tta gcc tgg tac cag cag aaa cct ggc cag gct ccc agg ctc ctc 144  
 Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu  
 35 40 45

atc tat ggt gca tcc agc agg gcc act ggc atc cca gac agg ttc agt 192  
 Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser  
 50 55 60

ggc agt ggg tct ggg aca gac ttc act ctc acc atc agc aga ctg gag 240  
 Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu  
 65 70 75 80

cct gaa gat ttt gca gtg tat tac tgt cag cag tat ggt agc tca ccg 288  
 Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Pro  
 85 90 95

tgc acc ttc ggc caa ggg aca cga ctg gag att aaa cga 327  
 Cys Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys Arg  
 100 105

<210> 10  
 <211> 109  
 <212> БЕЛОК  
 <213> HOMO SAPIENS

<400> 10

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser  
 20 25 30

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

Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser  
 50 55 60

2017-07-07-01-53-17-304.txt

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

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

Cys Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys Arg  
100 105

<210> 11

<211> 10

<212> БЕЛОК

<213> искусственная

<220>

<223> CDR1-х = гипервариабельный домен х тяжелой цепи AIN457

<400> 11

Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr Trp Met Asn  
1 5 10

<210> 12

<211> 11

<212> БЕЛОК

<213> искусственная

<220>

<223> CDR2-х = гипервариабельный домен тяжелой цепи х AIN457

<400> 12

Ala Ile Asn Gln Asp Gly Ser Glu Lys Tyr Tyr  
1 5 10

<210> 13

<211> 23

<212> БЕЛОК

<213> ИСКУССТВЕННАЯ

<220>

<223> CDR3-х = гипервариабельный домен х тяжелой цепи AIN457

<400> 13

Cys Val Arg Asp Tyr Tyr Asp Ile Leu Thr Asp Tyr Tyr Ile His Tyr  
1 5 10 15

Trp Tyr Phe Asp Leu Trp Gly  
20

<210> 14  
<211> 215  
<212> БЕЛОК  
<213> homo sapiens

<400> 14

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser  
20 25 30

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

Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser  
50 55 60

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

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

Cys Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala  
100 105 110

Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser  
115 120 125

Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu  
130 135 140

Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser  
145 150 155 160

Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu  
165 170 175

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

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

Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys  
210 215

<210> 15  
<211> 457  
<212> БЕЛОК  
<213> homo sapiens

<400> 15

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

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

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

Ala Ala Ile Asn Gln Asp Gly Ser Glu Lys Tyr Tyr Val Gly Ser Val  
50 55 60

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

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

Val Arg Asp Tyr Tyr Asp Ile Leu Thr Asp Tyr Tyr Ile His Tyr Trp  
100 105 110

Tyr Phe Asp Leu Trp Gly Arg Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala  
 115 120 125

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

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

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

Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu  
 180 185 190

Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr  
 195 200 205

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

Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro  
 225 230 235 240

Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys  
 245 250 255

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val  
 260 265 270

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr  
 275 280 285

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu  
 290 295 300

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His  
 305 310 315 320

2017-07-07-01-53-17-304.txt

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys  
325 330 335

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln  
340 345 350

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met  
355 360 365

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro  
370 375 380

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn  
385 390 395 400

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

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val  
420 425 430

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln  
435 440 445

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
450 455

**ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ**

1. Фармацевтический продукт, включающий

а) контейнер, имеющий свободное пространство, причем содержание кислорода в свободном пространстве составляет менее примерно 12%, и

б) жидкую фармацевтическую композицию, имеющую рН примерно 5,2 - примерно 6,2, размещенную в указанном контейнере, причем указанная композиция включает

i) примерно 20 мг/мл - примерно 175 мг/мл секукинумаба; и

ii) примерно 2,5 - примерно 20 мМ L-метионина,

причем жидкая фармацевтическая композиция не является восстановленной из лиофилизата.

2. Фармацевтический продукт по п.1, причем концентрация L-метионина составляет примерно 2,5 мМ, примерно 5 мМ, примерно 10 мМ или примерно 20 мМ.

3. Фармацевтический продукт по п.2, причем концентрация метионина составляет примерно 5 мМ.

4. Фармацевтический продукт по любому из предшествующих пп., в котором содержание кислорода в свободном пространстве составляет менее примерно 10%.

5. Фармацевтический продукт по любому из предшествующих пп., в котором содержание кислорода в свободном пространстве составляет менее примерно 8%.

6. Фармацевтический продукт по любому из предшествующих пп., в котором содержание кислорода в свободном пространстве составляет менее примерно 6%.

7. Фармацевтический продукт по любому из предшествующих пп., в котором жидкая фармацевтическая композиция имеет рН примерно 5,8.

8. Фармацевтический продукт по любому из предшествующих пп., в котором концентрация секукинумаба составляет примерно 25 мг/мл или примерно 150 мг/мл.

9. Фармацевтический продукт по любому из предшествующих пп., в котором жидкая фармацевтическая композиция дополнительно включает буфер, выбранный из группы, включающей гистидиновый буфер, цитратный буфер, ацетатный буфер и сукцинатный буфер.

10. Фармацевтический продукт по п.9, причем буфер находится в концентрации примерно 10 мМ – примерно 30 мМ.

11. Фармацевтический продукт по п.10, причем буфер представляет собой гистидиновый буфер в концентрации примерно 20 мМ.

12. Фармацевтический продукт по любому из предшествующих пп., в котором жидкая фармацевтическая композиция дополнительно включает поверхностно-активное вещество, выбранное из полисорбата и полуксамера.

13. Фармацевтический продукт по любому из предшествующих пп., причем поверхностно-активное вещество представляет собой полисорбат 80, полисорбат 20 или полуксамер 188.

14. Фармацевтический продукт по п.13, причем поверхностно-активное вещество представляет собой полисорбат 80 в концентрации примерно 0,01% (мас./об.) – примерно 0,04% (мас./об.).

15. Фармацевтический продукт по п.14, причем концентрация полисорбата 80 составляет примерно 0,02% (мас./об.).

16. Фармацевтический продукт по п.13, причем поверхностно-активное вещество представляет собой полисорбат 20 в концентрации примерно 0,02% (мас./об.).

17. Фармацевтический продукт по любому из предшествующих пп., в котором жидкая фармацевтическая композиция дополнительно включает стабилизатор, выбранный из группы, включающей маннит, хлорид натрия, трегалозу, аргинин.HCl и глицин.

18. Фармацевтический продукт по п.17, причем стабилизатор представляет собой трегалозу в концентрации примерно 180 мМ – примерно 300 мМ.

19. Фармацевтический продукт по п. 18, причем концентрация трегалозы составляет примерно 200 мМ – примерно 225 мМ.

20. Фармацевтический продукт по любому из предшествующих пп., в котором контейнер представляет собой картридж, шприц, ручку или флакон.

21. Фармацевтический продукт, включающий

а) контейнер, имеющий свободное пространство, причем содержание кислорода в свободном пространстве составляет менее

примерно 6%, и

b) жидкую фармацевтическую композицию, размещенную в указанном контейнере, причем указанная композиция включает примерно 25 мг/мл – примерно 150 мг/мл секукиномаба, примерно 10 мМ – примерно 30 мМ гистидина, рН 5,8, 200 мМ – примерно 225 мМ трегалозы, примерно 0,02% полисорбата 80 и примерно 2,5 мМ – примерно 20 мМ метионина, причем жидкая фармацевтическая композиция не является восстановленной из лиофилизата.

22. Фармацевтический продукт по п.21, включающий примерно 25 мг/мл секукиномаба и примерно 225 мМ трегалозы.

23. Фармацевтический продукт по п.21, включающий примерно 150 мг/мл секукиномаба и примерно 200 мМ трегалозы.

24. Фармацевтический продукт по любому из предшествующих пп., в котором жидкая композиция сохраняет

a) по меньшей мере примерно 86% чистоту по ОФ-ВЭЖХ после хранения при 2–8°C в течение 6 месяцев, по меньшей мере примерно 76% чистоту по ОФ-ВЭЖХ после хранения при 25°C/60% RH в течение 6 месяцев и/или по меньшей мере примерно 60% чистоту по ОФ-ВЭЖХ после хранения при 30°C/75% RH в течение 6 месяцев;

b) по меньшей мере примерно 77% чистоту по СЕХ после хранения при 2–8°C в течение 6 месяцев, по меньшей мере примерно 62% чистоту по СЕХ после хранения при 25°C/60% RH в течение 6 месяцев и/или по меньшей мере примерно 50% чистоту по СЕХ после хранения при 30°C/75% RH в течение 6 месяцев;

c) жидкая композиция сохраняет по меньшей мере примерно 98% чистоту по SEC после хранения при 2–8°C в течение 6 месяцев, по меньшей мере примерно 96% чистоту по SEC после хранения при 25°C/60% RH в течение 6 месяцев и/или по меньшей мере примерно 94% чистоту по SEC после хранения при 30°C/75% RH в течение 6 месяцев;

d) по меньшей мере примерно 97% чистоту по CE-SDS (в невосстанавливающих условиях) после хранения при 2–8°C в течение 6 месяцев, по меньшей мере примерно 95% чистоту по CE-SDS (в невосстанавливающих условиях) после хранения при 25°C/60% RH в

течение 6 месяцев и/или по меньшей мере примерно 94% (предпочтительно по меньшей мере примерно 92%) чистоту по CE-SDS (в невосстанавливающих условиях) после хранения при 30°C/75% RH в течение 6 месяцев;

е) менее примерно 0,57% примесей по CE-SDS (в условиях восстановления) после хранения при 2-8°C в течение 6 месяцев, менее примерно 1,1% примесей по CE-SDS (в условиях восстановления) после хранения при 25°C/60% RH в течение 6 месяцев и/или менее примерно 1,9% примесей по CE-SDS (в условиях восстановления) после хранения при 30°C/75% RH в течение 6 месяцев; и/или

f) по меньшей мере примерно 88% относительную биологическую активность по ингибированию высвобождения IL-6 из хондроцитов C-20/A4 после хранения при 2-8°C в течение 24 месяцев, по меньшей мере примерно 94% относительную биологическую активность по ингибированию высвобождения IL-6 из хондроцитов после хранения при 25°C/60% RH в течение 6 месяцев и/или по меньшей мере примерно 85% относительную биологическую активность по ингибированию высвобождения IL-6 из хондроцитов после хранения при 30°C/75% RH в течение 6 месяцев.

25. Фармацевтический продукт по любому из предшествующих пп., в котором жидкая композиция сохраняет

а) по меньшей мере примерно 84% чистоту по ОФ-ВЭЖХ после хранения при 2-8°C в течение 24 месяцев;

б) по меньшей мере примерно 73% чистоту по СЕХ после хранения при 2-8°C в течение 24 месяцев;

с) по меньшей мере примерно 97% чистоту по SEC после хранения при 2-8°C в течение 24 месяцев;

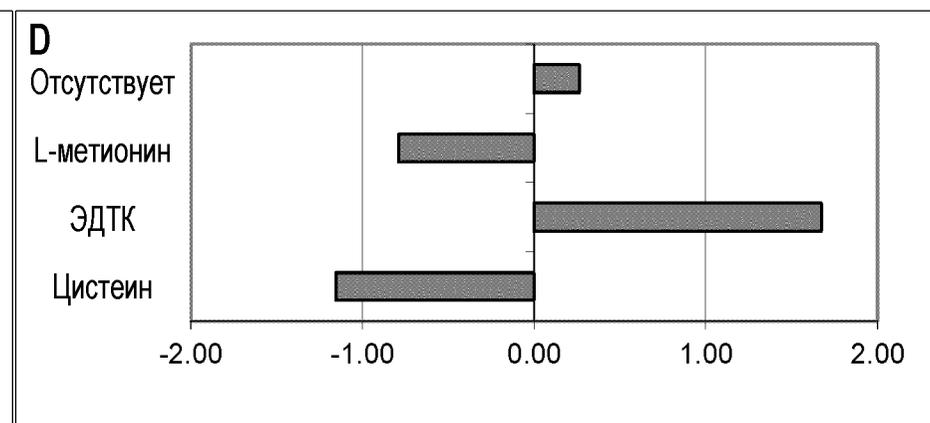
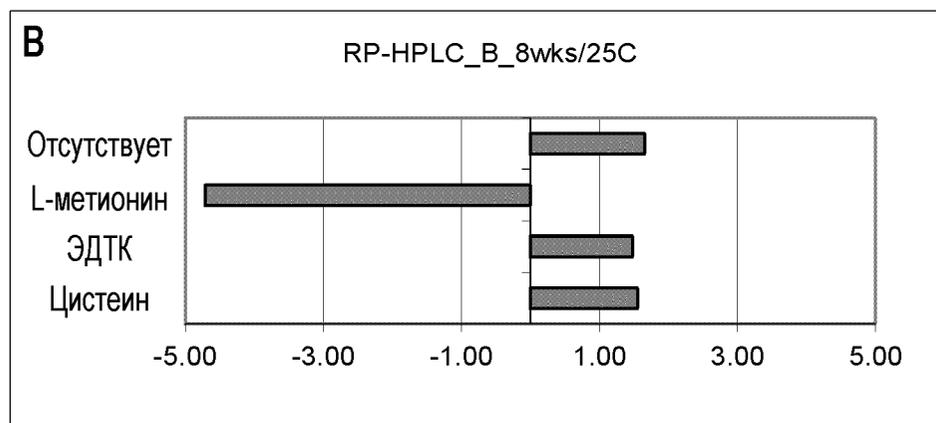
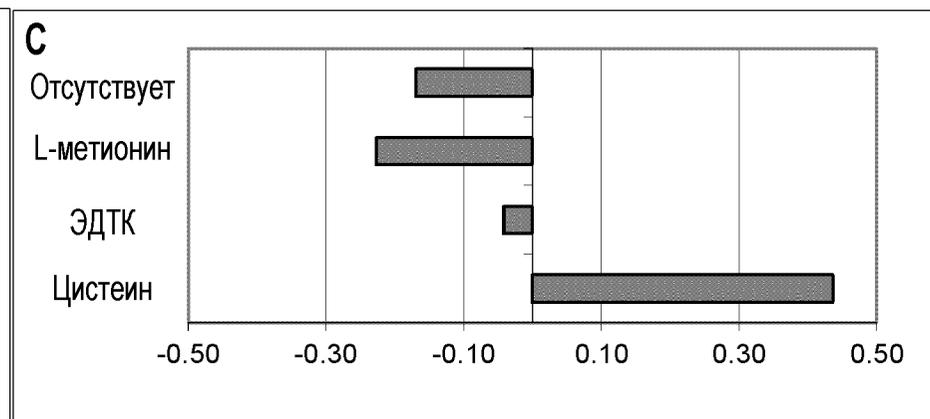
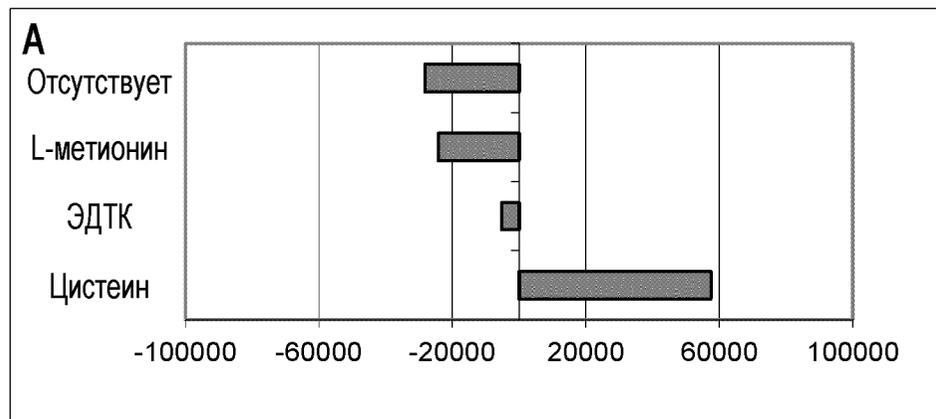
д) по меньшей мере примерно 97% чистоту по CE-SDS (в невосстанавливающих условиях) после хранения при 2-8°C в течение 24 месяцев; и/или

е) менее примерно 0,91% примесей по CE-SDS (в невосстанавливающих условиях) после хранения при 2-8°C в течение 24 месяцев.

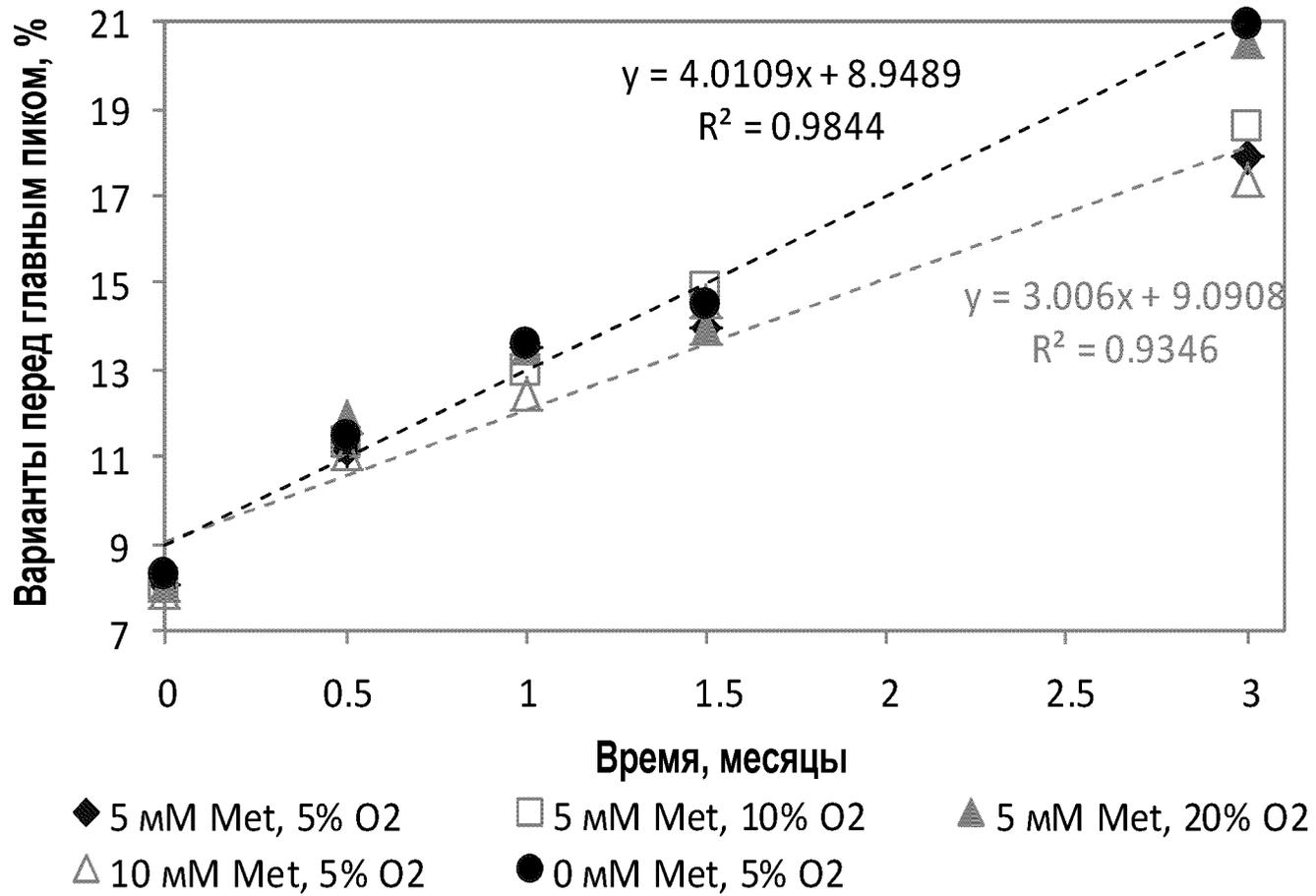
26. Способ уменьшения окисления секукинумаба, включающий
- a) получение жидкой композиции, имеющей рН примерно 5,2 - примерно 6,2 и включающей
    - i) примерно 25 мг/мл - примерно 150 мг/мл секукинумаба и
    - ii) примерно 2,5 мМ - примерно 20 мМ метионина;
  - b) размещение указанной жидкой композиции в контейнере, имеющем свободное пространство; и
  - c) доведение содержания кислорода в свободном пространстве до уровня, равного или меньшей примерно 12%.
27. Способ по п.26, в котором стадию доведения с) выполняют, продувая свободное пространство с использованием инертного газа.
28. Способ по п.27, причем инертным газом является азот или аргон.
29. Способ по п.26, причем концентрация метионина составляет примерно 2,5 мМ, примерно 5 мМ, примерно 10 мМ или примерно 20 мМ.
30. Способ по п.29, причем концентрация метионина составляет примерно 5 мМ.
31. Способ по п.26, причем содержание кислорода в свободном пространстве доводят до менее примерно 10%.
32. Способ по п.26, причем содержание кислорода в свободном пространстве доводят до менее примерно 8%.
33. Способ по п.26, причем содержание кислорода в свободном пространстве доводят до менее примерно 6%.
34. Способ по п.26, причем жидкая композиция имеет рН примерно 5,8.
35. Способ по п.26, причем концентрация секукинумаба составляет примерно 25 мг/мл или примерно 150 мг/мл.
36. Жидкая фармацевтическая композиция, включающая примерно 25 мг/мл - примерно 150 мг/мл секукинумаба, примерно 10 мМ - примерно 30 мМ гистидина, рН 5,8, примерно 200 мМ - примерно 225 мМ трегалозы, примерно 0,02% полисорбата 80 и примерно 2,5 мМ - примерно 20 мМ метионина, причем жидкая фармацевтическая композиция не является восстановленной из лиофилизата.

По доверенности

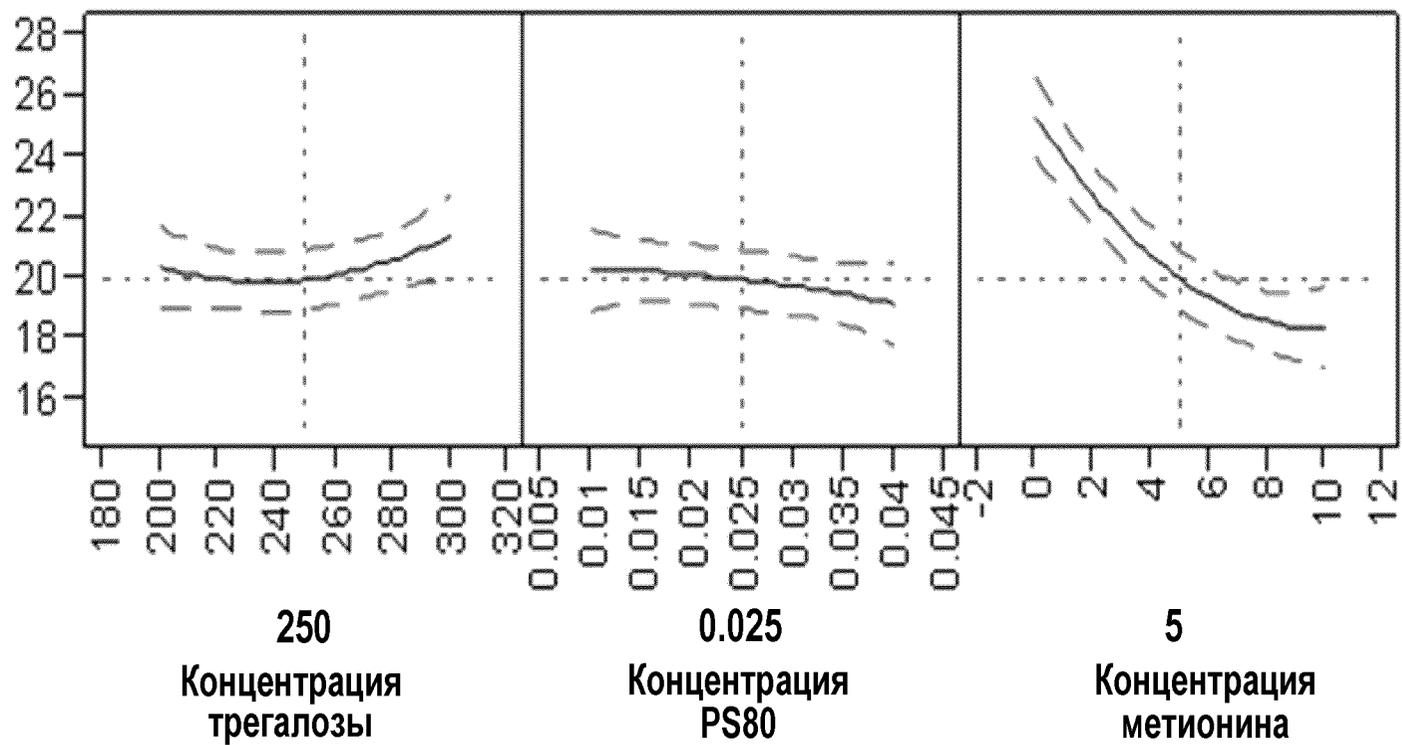
ФИГ.1



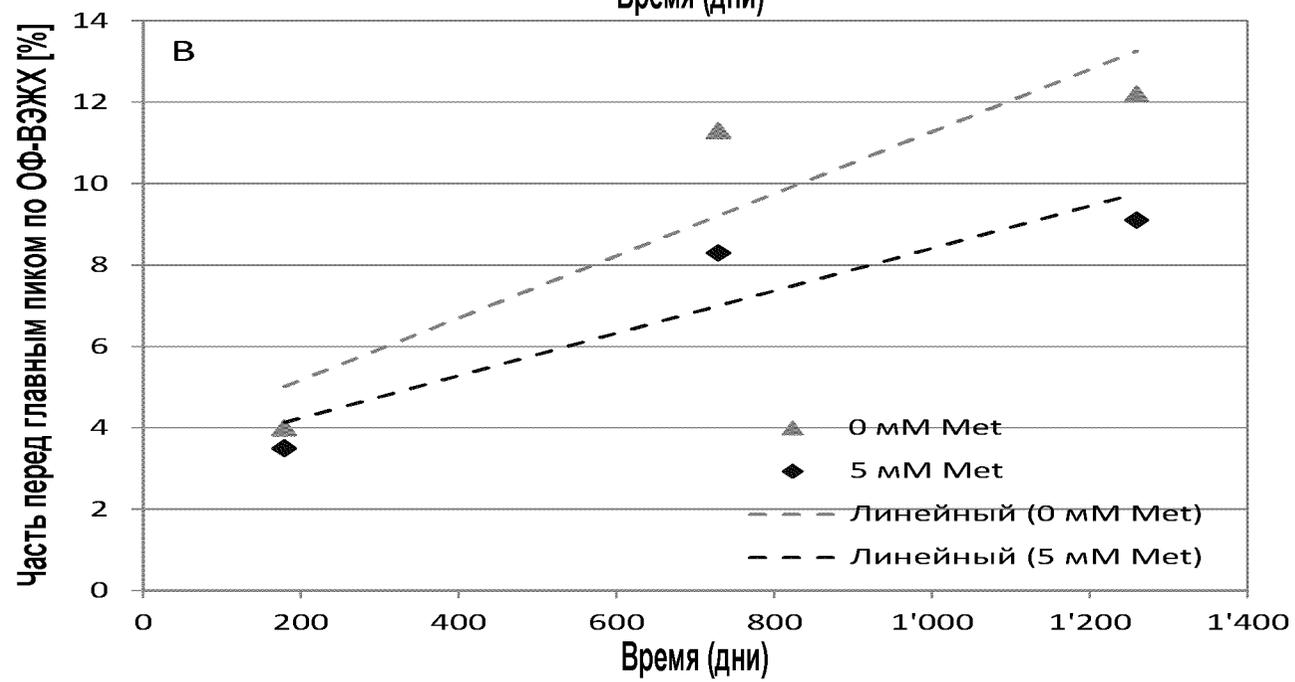
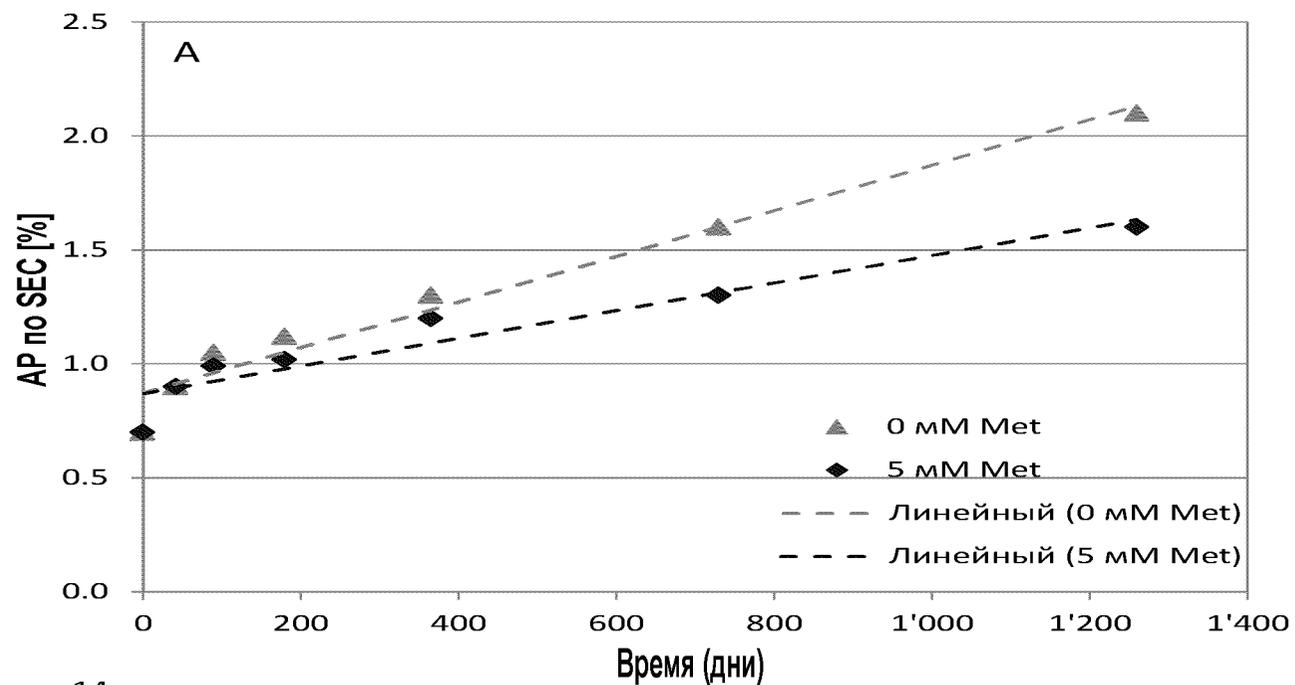
ФИГ.2



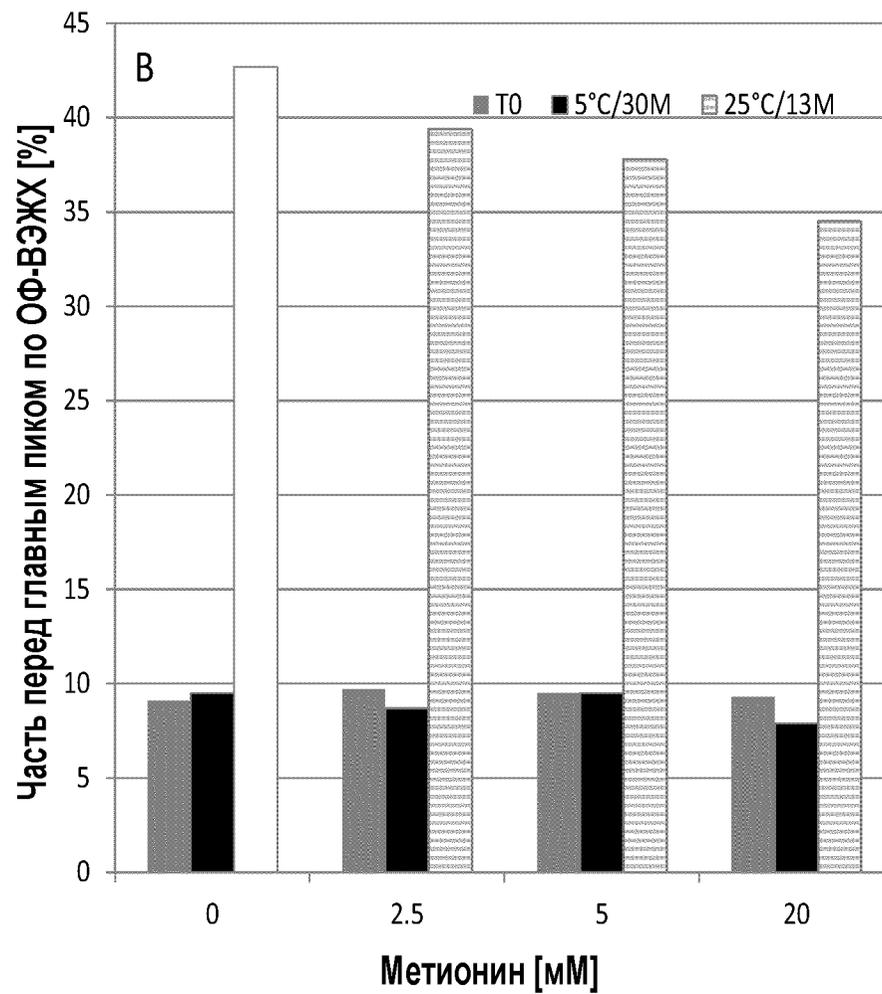
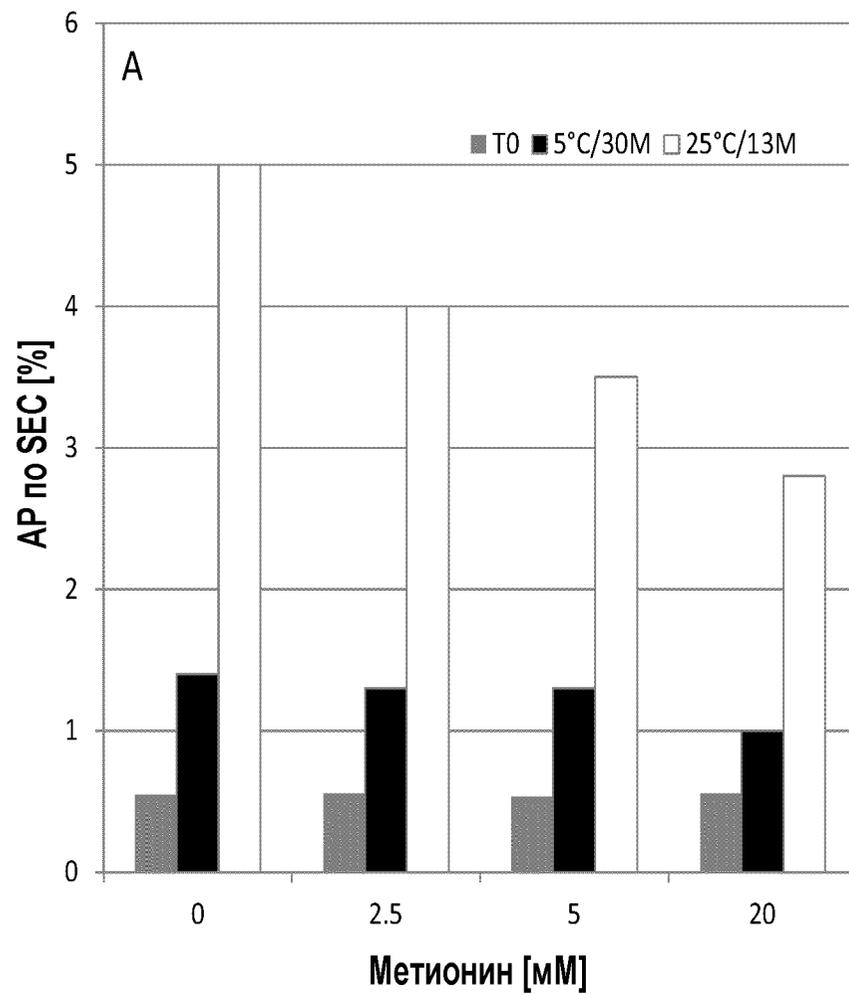
ФИГ.3



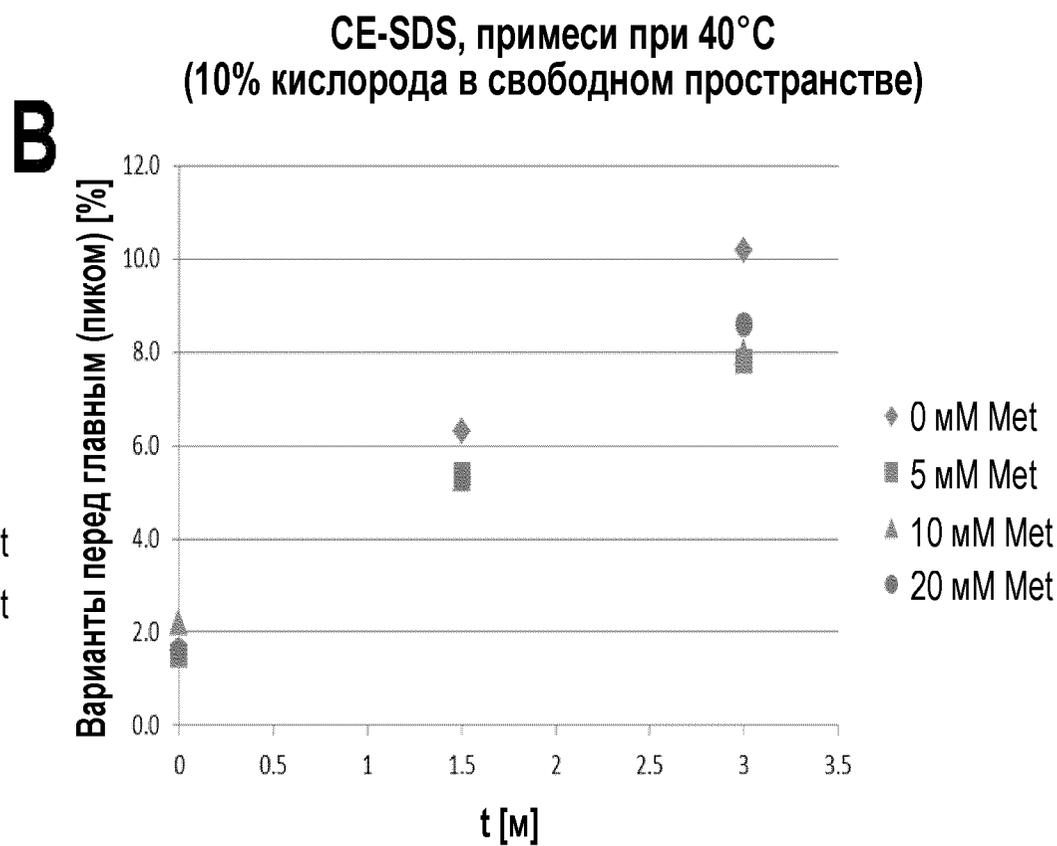
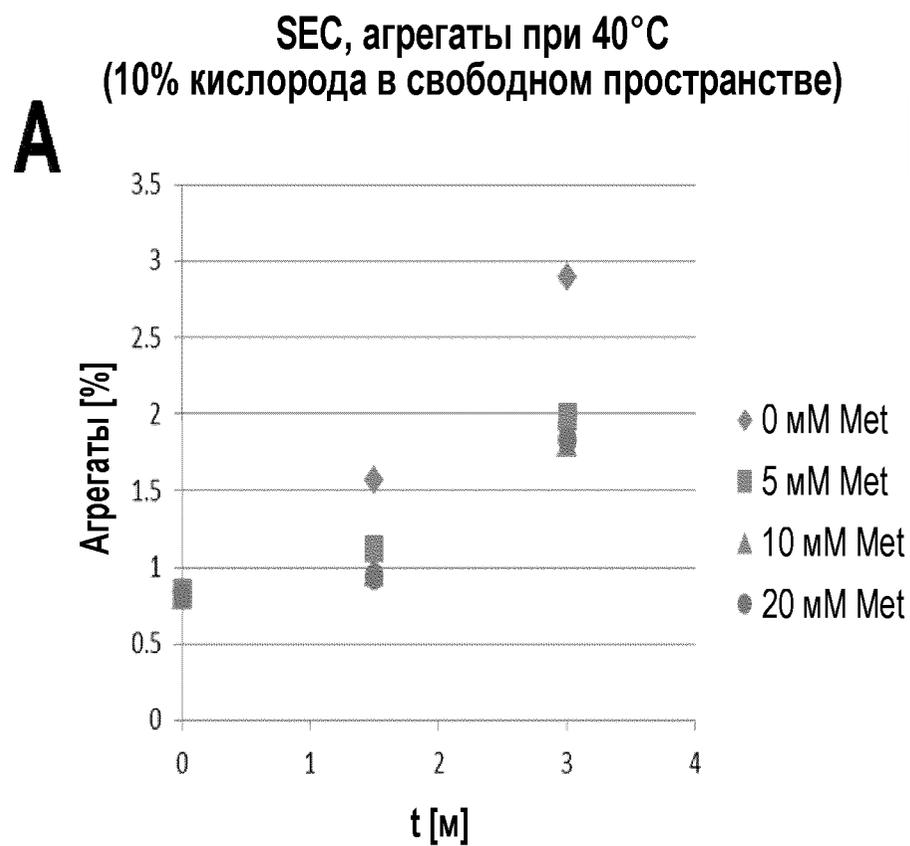
ФИГ.4



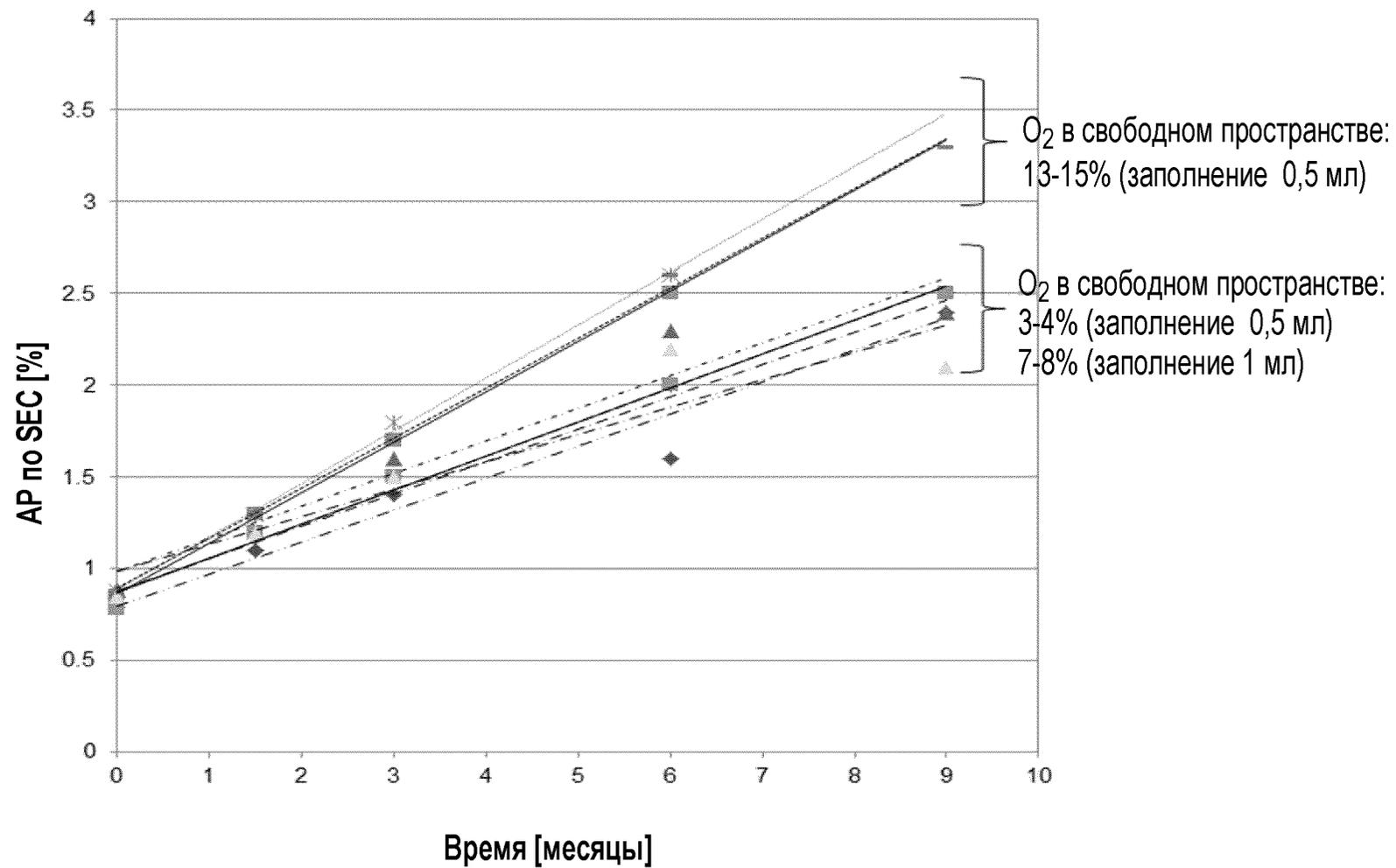
ФИГ.5



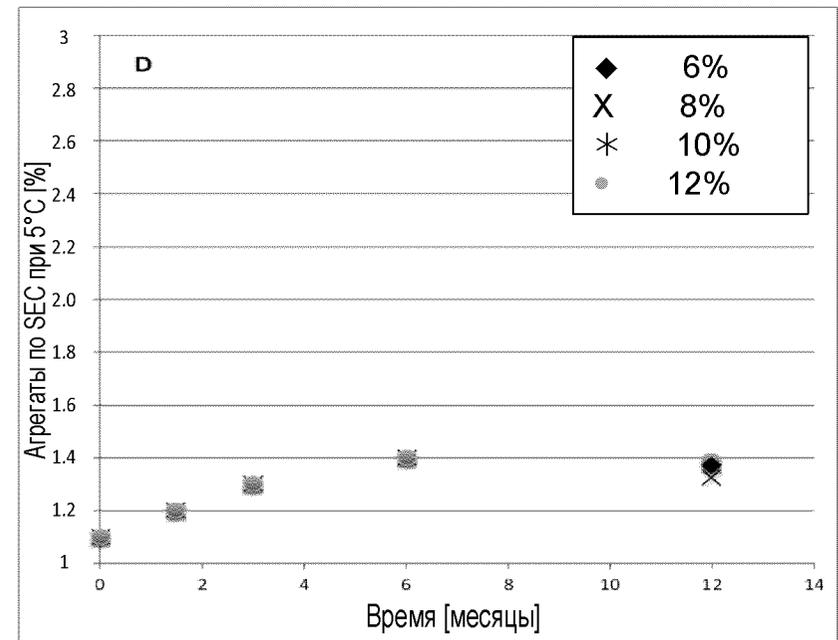
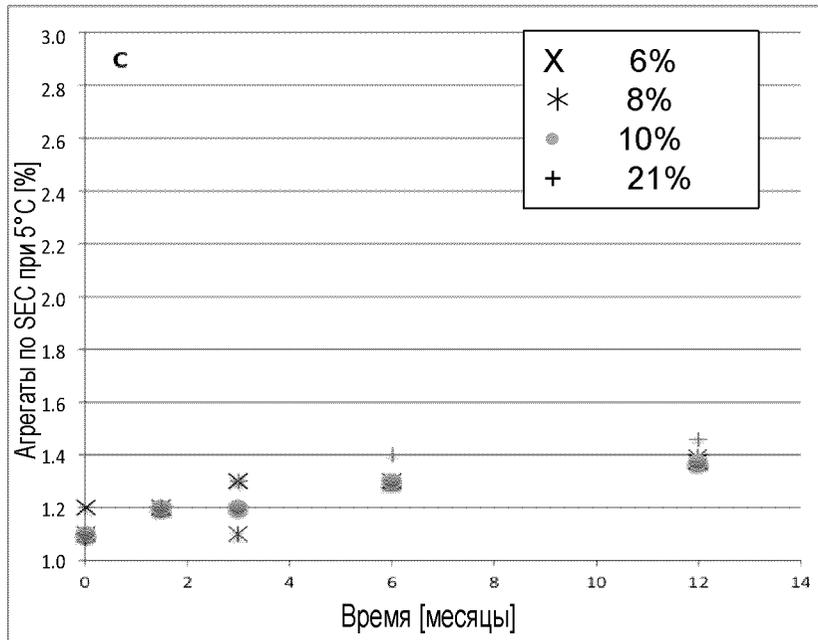
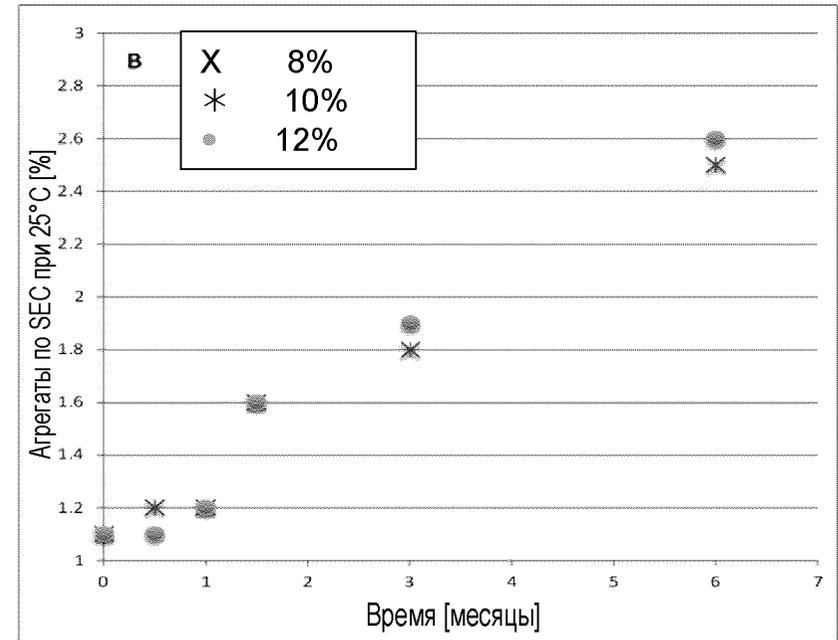
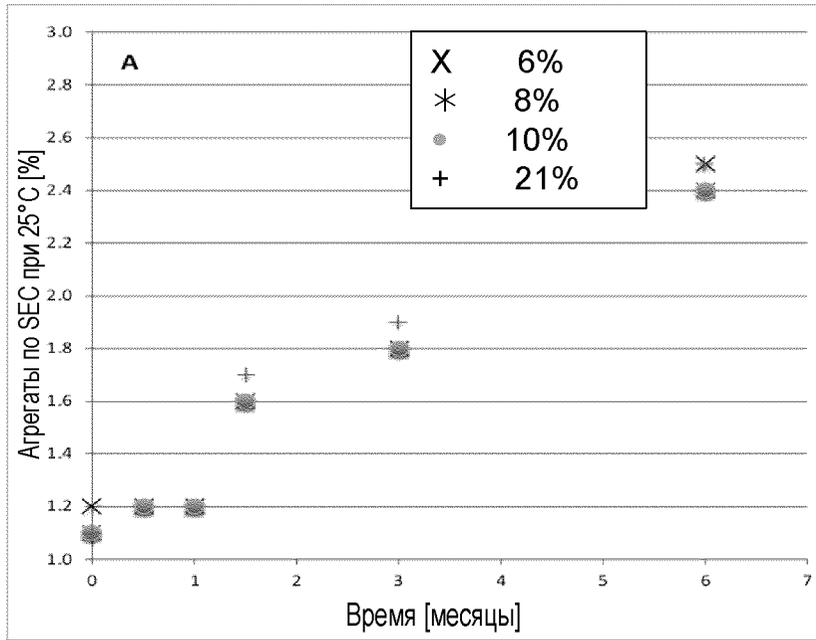
ФИГ.6



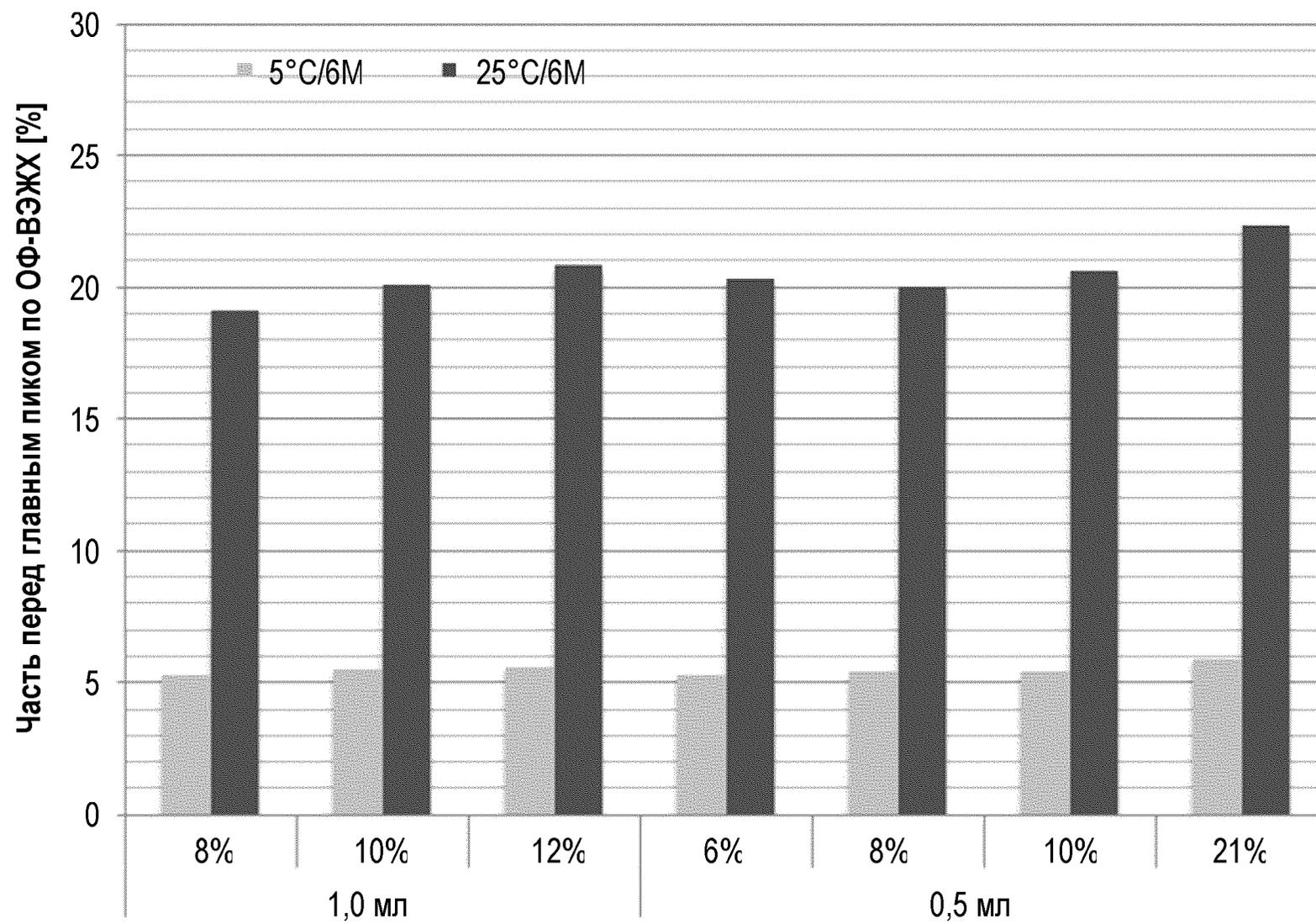
ФИГ.7



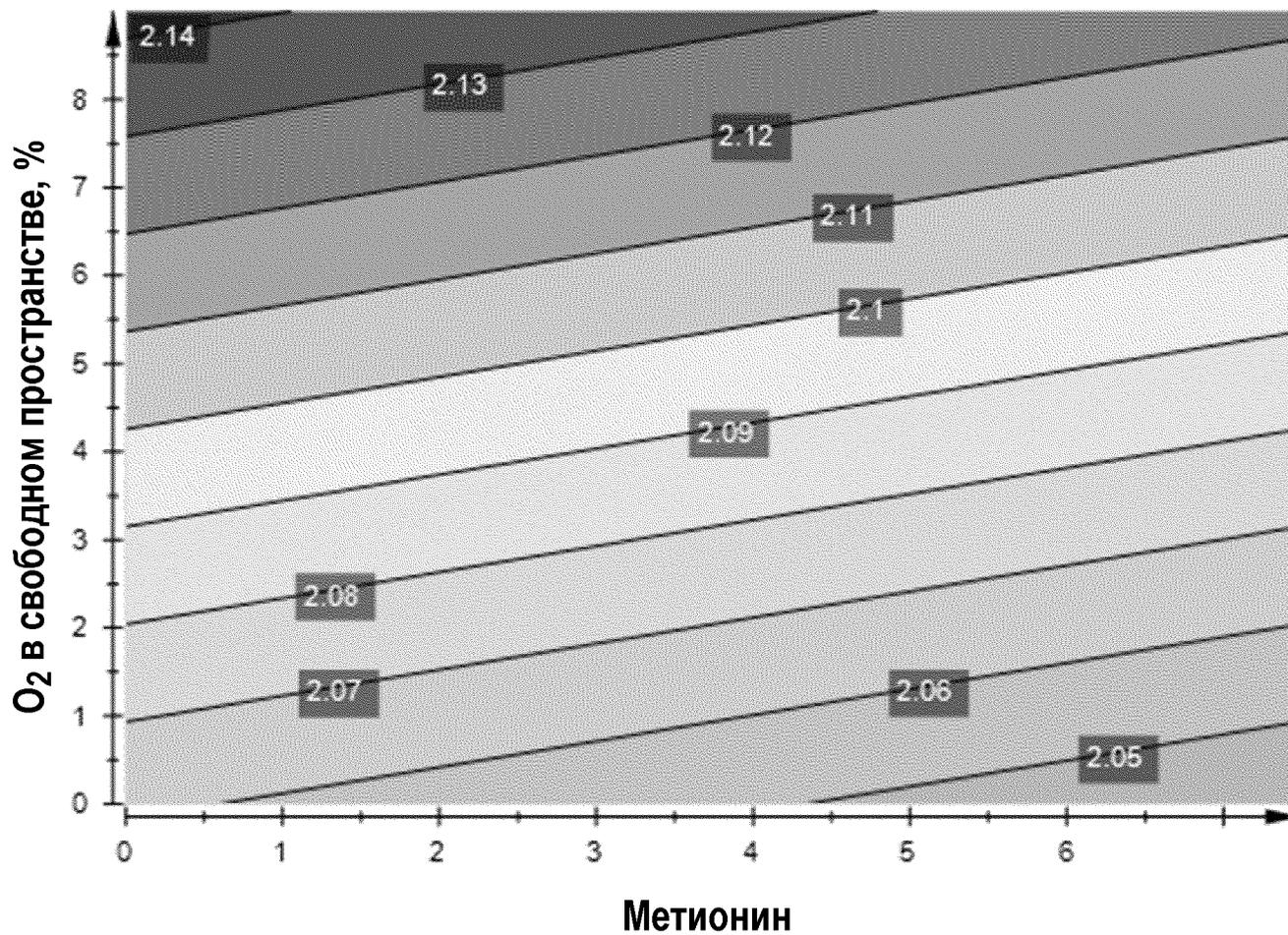
ФИГ.8



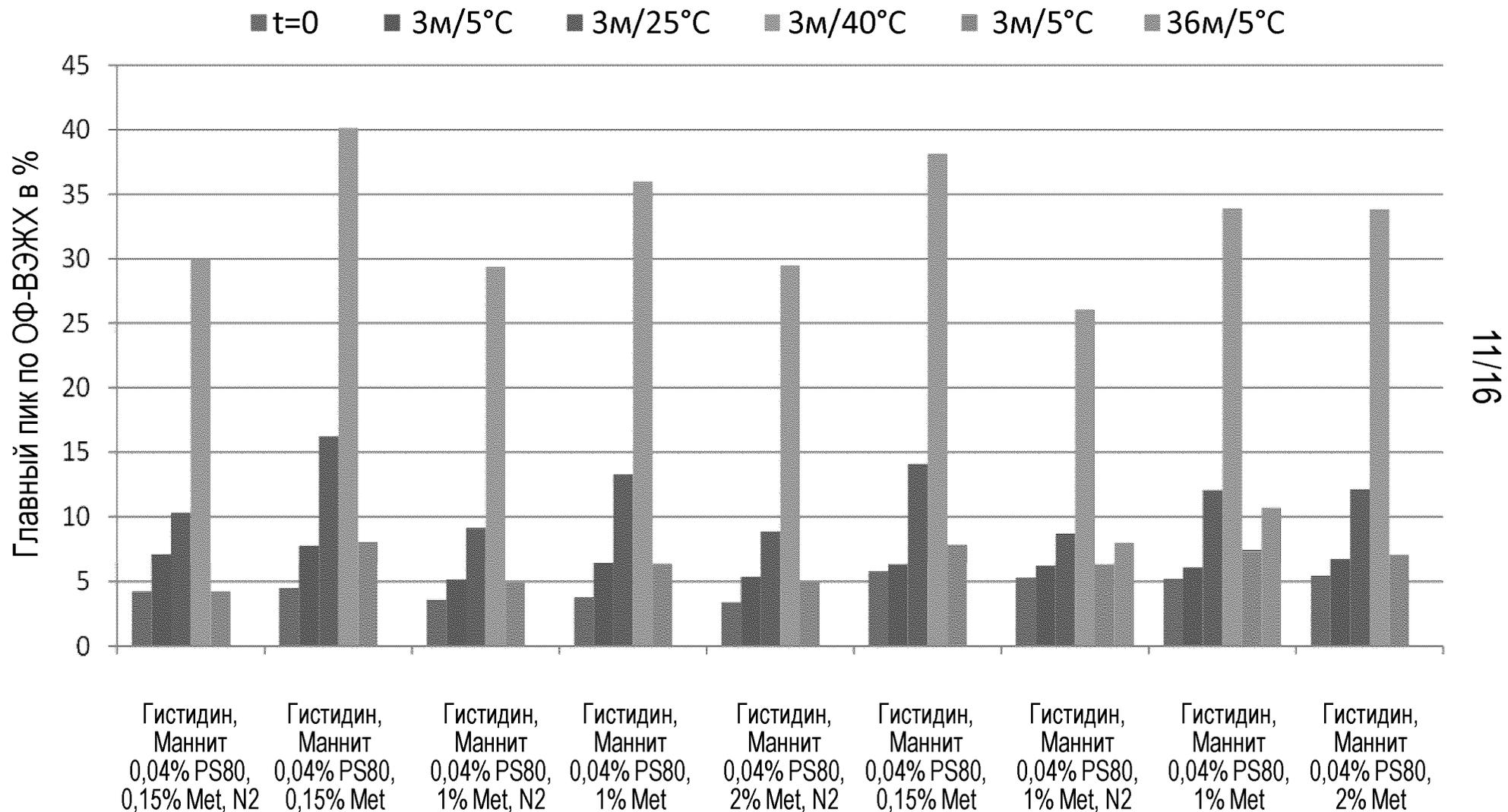
ФИГ.9



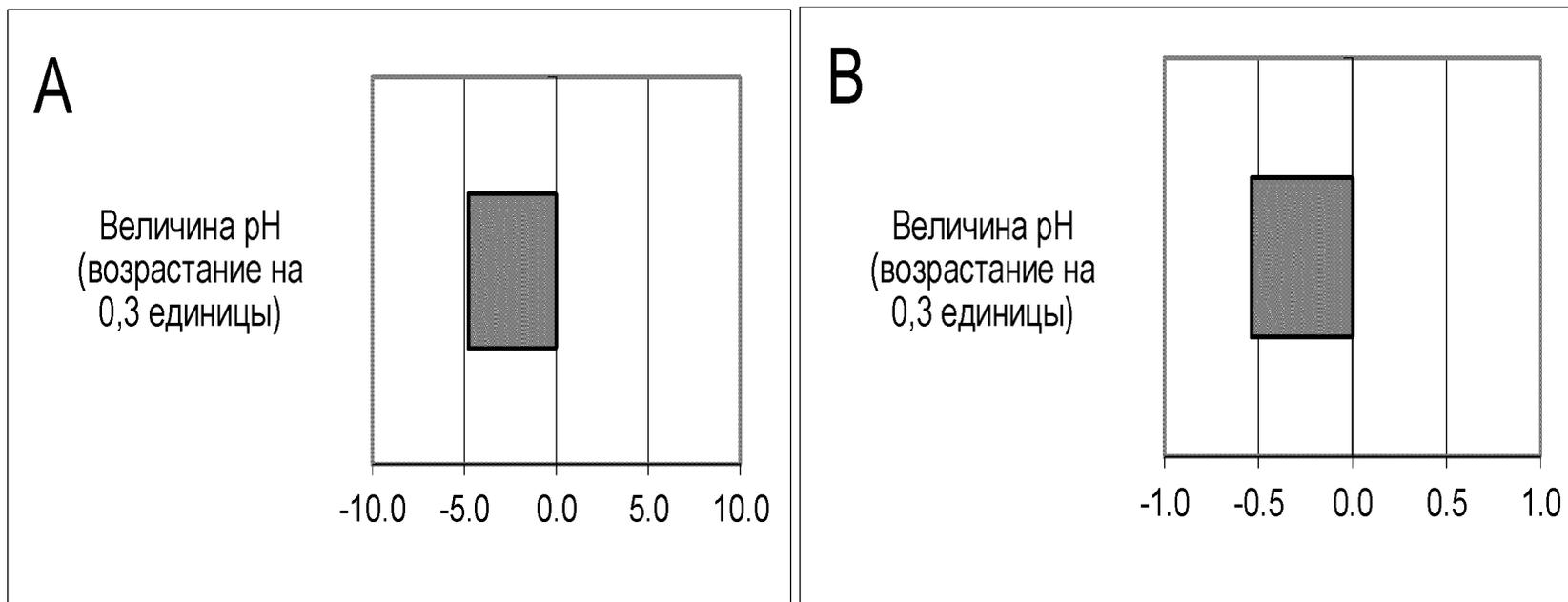
ФИГ.10



ФИГ.11



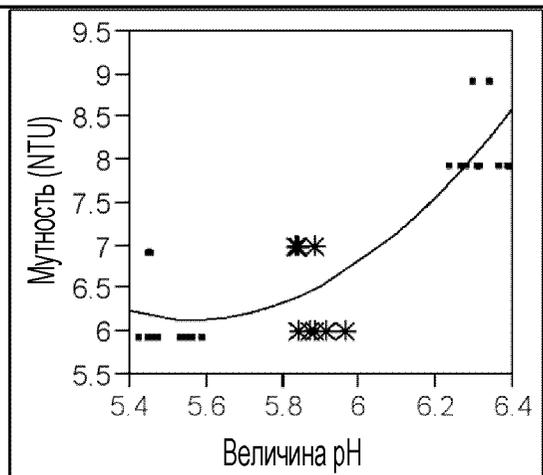
ФИГ.12



ФИГ.13

Двумерный подбор кривой мутности (NTU) по величине pH

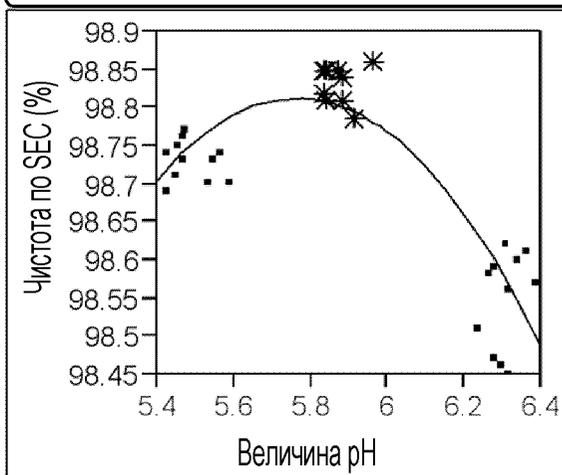
А



— Подбор многочлена, степень=2

Двумерный подбор кривой чистоты по SEC (%) по величине pH

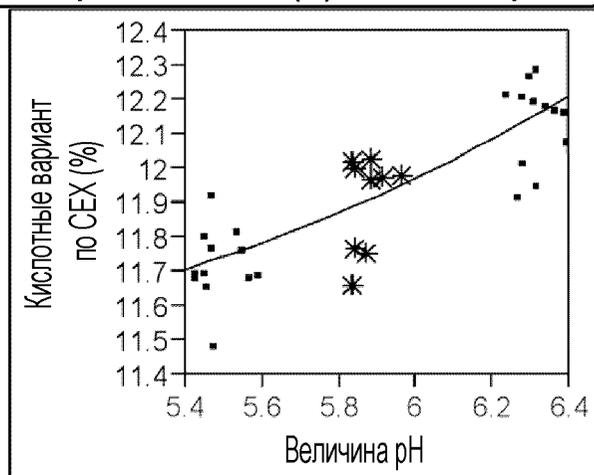
В



— Подбор многочлена, степень=2

Двумерный подбор кривой для кислотных вариантов по СЕХ (%) по величине pH

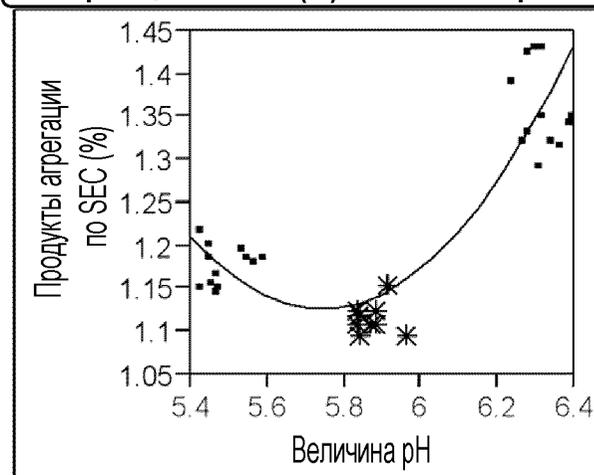
С



— Подбор многочлена, степень=2

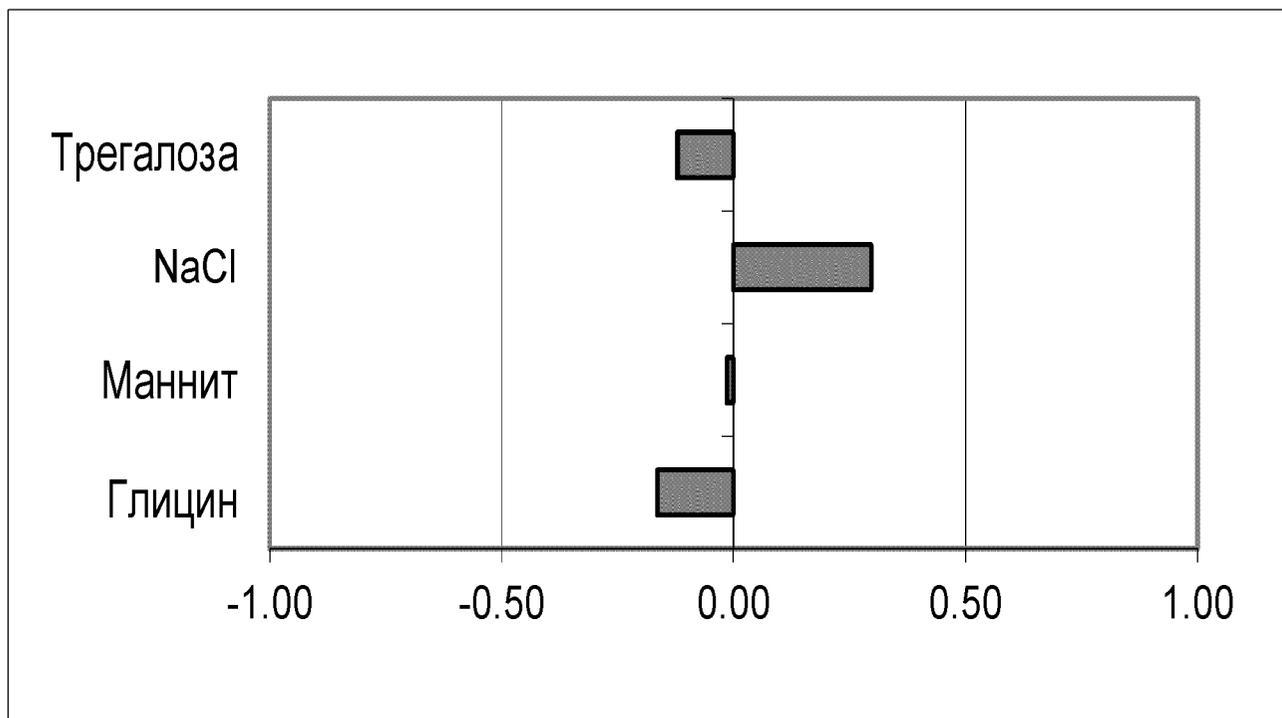
Двумерный подбор кривой для продуктов агрегации по SEC (%) по величине pH

Д

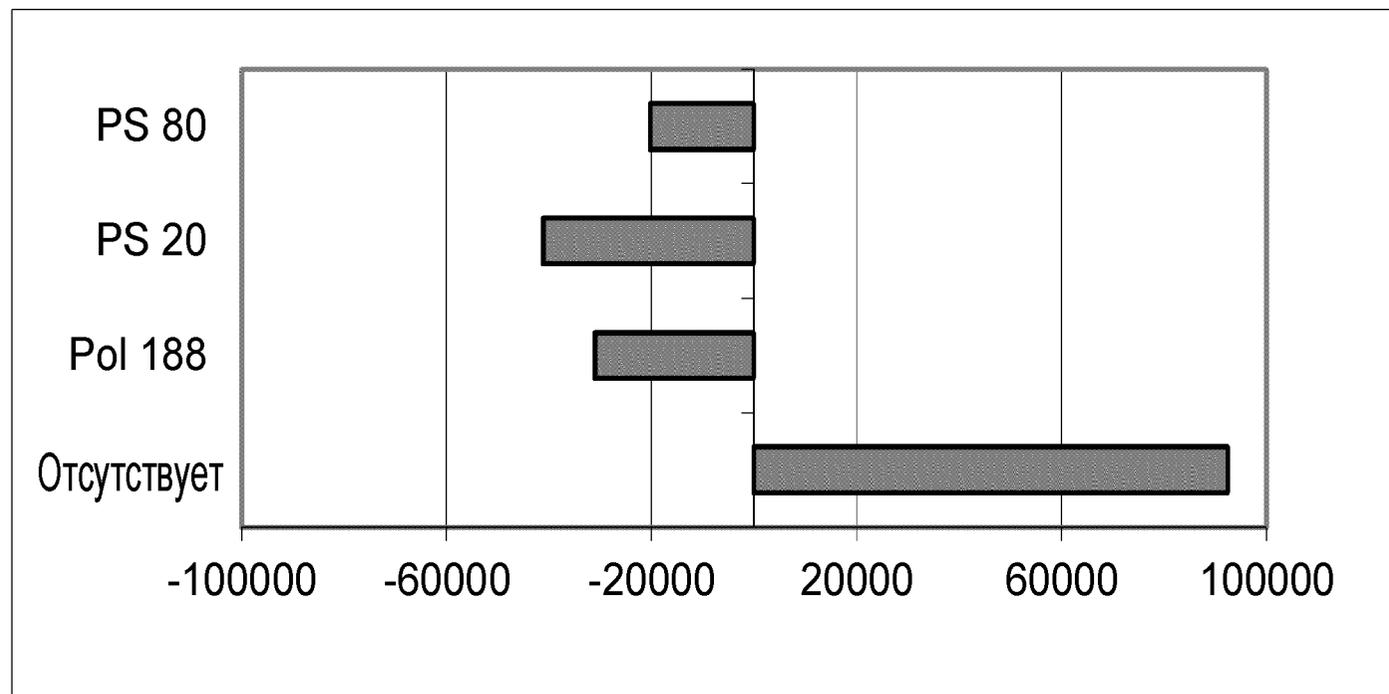


— Подбор многочлена, степень=2

ФИГ.14



ФИГ.15



ФИГ.16

