

СПОСОБЫ ЛЕЧЕНИЯ БОЛЕЗНИ КРОНА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ АНТИТЕЛА К
IL12/IL23

5

ОБЛАСТЬ ТЕХНИКИ

Изобретение относится к способам обеспечения клинически подтвержденного безопасного и эффективного лечения болезни Крона, особенно активного заболевания Крона от умеренной до тяжелой степени у пациентов, клинический ответ которых
10 измеряется через 16 недель, а режим терапии оценивают и необязательно регулируют с применением внутривенного и/или подкожного введения антитела к IL12/23.

ССЫЛКА НА ПЕРЕЧЕНЬ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ, ПОДАННЫЙ В
ЭЛЕКТРОННОМ ВИДЕ

Данная заявка содержит перечень последовательностей, который подается в
15 электронном виде посредством EFS-Web как перечень последовательностей в формате ASCII с именем файла JBI6409WOPCT1SEQLIST.txt, с датой создания 01 октября 2021 г. и размером 15 КБ. Перечень последовательностей, представленный посредством EFS-Web, является частью описания и полностью включен в настоящий документ путем ссылки.

20

ПРЕДПОСЫЛКИ СОЗДАНИЯ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Воспалительные заболевания кишечника (ВЗК), включая болезнь Крона, представляют собой хронические рецидивирующие расстройства, характеризующиеся деструктивным воспалением и повреждением эпителия желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) (Baumgart and Sandborn, J Clin Invest. 98:1010-1020 (1996); Danese and Fiocchi, N
25 Engl J Med. 365:1715-1725 (2011)).

Участие пути IL12/23 в патогенезе ВЗК хорошо изучено, и было выявлено влияние пути IL12/IL-23 на воспаление кишечника при колите (Ahern et al., Immunity. 33(2):279-288 (2010); Uhlig et al., Immunity. 25:309-318 (2006); Yen et al., J Clin Invest. 116(5):1310-1316 (2006)). Первые исследования показали, что лечение антителами к
30 IFN γ (Berg et al., J Clin Invest. 98:1010-1020 (1996); Davidson et al., J Immunol. 161: 3143–3149 (1998)) или моноклональными антителами (mAb) к IL-12p40 предотвращало заболевание в экспериментальных моделях колита, что указывает на важную роль T-хелперных клеток типа 1 (Th-1) в стимуляции воспаления кишечника (Neurath et al., J Exp Med. 182(5):1281-1290 (1995)).

В настоящее время существует три класса биологических агентов, одобренных для лечения болезни Крона умеренного или тяжелого течения: антагонисты фактора некроза опухолей (ФНО) (инфликсимаб, адалимумаб, цертолизумаб), ингибиторы интегрина (натализумаб и ведолизумаб) и ингибиторы к IL12/23 (устекинумаб).

5 Эффективность и безопасность внутривенного (в/в) введения устекинумаба в качестве индукционной терапии при болезни Крона оценивали в клинических исследованиях CRD3001 и CRD3002. В исследовании CRD3001 оценивали субъектов с предшествующим неудачным лечением одним или более антагонистами ФНО или их непереносимостью, а в CRD3002 — субъектов с неадекватным ответом или
10 непереносимостью кортикостероидов или иммуномодуляторов, но без неадекватного ответа на антагонисты ФНО или их непереносимости в анамнезе. В этих исследованиях оценивали две в/в дозы: фиксированную в/в дозу 130 мг (~ 2 мг/кг в расчете на кг массы тела) были выбраны для группы с низкой дозой, тогда как дозы, основанные на диапазоне массы тела, приблизительно равные ~ 6 мг/кг в/в (масса тела \leq 55 кг: устекинумаб 260 мг; масса тела $>$ 55 и \leq 85 кг: устекинумаб 390 мг; масса тела $>$ 85 кг: устекинумаб: 520 мг), были выбраны для группы с высокой дозой. В обоих
15 исследованиях показано, что применение устекинумаба имеет клинически значимую эффективность по сравнению с плацебо и хорошую переносимость, при этом был отмечен благоприятный профиль безопасности.

20 Хотя использование биологических агентов значительно увеличило эффективность клинического ведения пациентов с болезнью Крона умеренного или тяжелого течения, значительная часть целевой популяции пациентов не отвечает на лечение или со временем теряет восприимчивость к данному лечению. Обзор имеющихся данных по одобренным биологическим агентам выявил
25 неудовлетворенную потребность в достижении и поддержании долгосрочной ремиссии, особенно среди пациентов, которые ранее оказались невосприимчивы к лечению с помощью биологических агентов. У всех получавших лечение пациентов (т.е. у всех пациентов, которые во время исследований были рандомизированы по группам, начиная с недели 0) частота наступления клинической ремиссии через 1 год в
30 популяции пациентов с биологической неэффективностью или непереносимостью (BIO-Failure), составляет около 20% и колеблется в пределах от 20% до 50% в популяции пациентов с неэффективностью или непереносимостью стандартной терапии (CON-Failure).

В данной области техники существует потребность в усовершенствованных способах лечения болезни Крона для повышения эффективности у более высокого процента пациентов, особенно с активной болезнью Крона от умеренной до тяжелой степени.

5 КРАТКОЕ ИЗЛОЖЕНИЕ СУЩНОСТИ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Настоящая заявка относится к клинически подтвержденным безопасным и эффективным способам и композициям для лечения умеренной и тяжелой активной болезни Крона путем введения антитела к IL12/IL23p40 (анти-IL12/IL23) субъектам в начальной внутривенной дозе, подкожной дозе через восемь (8) недель после 10 начальной дозы, измерения показателей клинического ответа (эффективности) через 16 недель после начальной дозы на основе оценки клинических конечных точек, биомаркеров и/или клинического ответа, введения антитела подкожно через 16 недель 15 после начальной дозы и каждые 4 недели после этого, каждые 8 недель после этого или каждые 12 недель после этого.

В одном общем аспекте заявка относится к клинически подтвержденному 20 безопасному и клинически подтвержденному эффективному способу лечения болезни Крона с умеренным или тяжелым течением у нуждающегося в этом субъекта, включающему введение субъекту фармацевтической композиции, содержащей безопасное и эффективное количество антитела к IL12/23p40, причем антитело 25 содержит переменную область тяжелой цепи и переменную область легкой цепи, при этом переменная область тяжелой цепи содержит: аминокислотную последовательность определяющей комплементарности области тяжелой цепи 1 (CDRH1) SEQ ID NO:1; аминокислотную последовательность CDRH2 SEQ ID NO:2; и аминокислотную последовательность CDRH3 SEQ ID NO:3; а переменная область легкой цепи содержит: аминокислотную последовательность определяющей комплементарности области легкой цепи 1 (CDRL1) SEQ ID NO:4; Аминокислотную последовательность CDRL2 SEQ ID NO:5; и аминокислотную последовательность CDRL3 SEQ ID NO:6.

В определенных вариантах осуществления способы настоящей заявки включают 30 внутривенное (в/в) и/или подкожное (п/к) введение субъекту фармацевтической композиции, содержащей антитело к IL12/23p40 или антигенсвязывающий фрагмент, содержащий: (i) аминокислотную последовательность переменного домена тяжелой цепи SEQ ID NO:7; и (ii) аминокислотную последовательность переменного домена легкой цепи SEQ ID NO:8.

В определенных вариантах осуществления способы настоящей заявки включают внутривенное (в/в) и/или подкожное (п/к) введение субъекту фармацевтической композиции, содержащей антитело к IL12/23p40 устекинумаб, включая: (i) аминокислотную последовательность тяжелой цепи SEQ ID NO:10; и (ii) аминокислотную последовательность легкой цепи SEQ ID NO:11.

В определенных вариантах осуществления в/в доза на 0-й неделе составляет около 6,0 мг/кг. Например, в/в доза составляет 260 мг для субъектов с массой тела ≥ 35 кг и ≤ 55 кг, 390 мг для субъектов с массой тела > 55 кг и ≤ 85 кг и 520 мг для субъектов с массой тела > 85 кг.

В определенных вариантах осуществления у субъекта, получающего лечение способами в соответствии с вариантами осуществления заявки, предпочтительно наблюдался неадекватный ответ на стандартные или существующие способы лечения или их непереносимость. В некоторых вариантах осуществления биологическая терапия, такая как антитела против ФНО и/или ведолизумаб, оказалась ранее неэффективной или непереносимой для субъекта. В некоторых вариантах осуществления небιологическая терапия, например лечение с помощью кортикостероидов, азатиоприна (AZA) и/или 6-меркаптопурина (6 MP), оказалась ранее неэффективной или непереносимой для субъекта. В некоторых вариантах осуществления у субъекта проявилась кортикостероидная зависимость.

В других вариантах осуществления в настоящем изобретении предложен клинически подтвержденный безопасный и клинически подтвержденный эффективный способ лечения болезни Крона с умеренным или тяжелым течением у субъекта, причем субъект представляет собой пациента, ответившего на лечение антителом, и согласно определению у него происходит статистически существенное снижение активности заболевания, определяемое клиническими показателями и клиническими конечными точками, которые выбирают из:

- (i) Эндоскопический ответ (снижение по сравнению с исходным уровнем по шкале SES-CD $\geq 50\%$)
- (ii) Общая эндоскопическая ремиссия (балл по шкале SES-CD ≤ 2)
- (iii) Заживление слизистой оболочки (полное отсутствие изъязвлений слизистой в любом подвздошно-ободочном сегменте)
- (iv) Ответ по шкале CDAI 70 (улучшение общей оценки по CDAI на ≥ 70 пунктов по сравнению с исходным уровнем)

- (v) Клинический ответ (снижение на ≥ 100 пунктов от исходного уровня общего балла по CDAI или общий балл < 150)
- (vi) Клиническая ремиссия (общий балл по CDAI < 150 пунктов)
- (vii) Изменение от исходного уровня биомаркеров (fCal и CRP)
- 5 (viii) Изменение индекса активности болезни Крона (CAI) относительно исходного уровня; Оценка по шкале CDAI будет проводиться путем сбора информации по 8 различным переменным, связанным с болезнью Крона, с показателями в диапазоне от 0 до приблизительно 600. Уменьшение данной величины с течением времени указывает на улучшение
- 10 течения заболевания.
- (ix) Ремиссия на основе сообщаемого пациентом результата (PRO)-2 на неделе 16 или неделе 48, определенная на основе среднесуточной частоты стула (SF) и среднесуточной оценки боли в области живота (AP).
- (x) Ответ по клиническим показателям и биомаркерам с использованием
- 15 клинического ответа на основе оценки CDAI и снижения относительно исходного уровня С-реактивного белка (CRP) или фекального кальпротектина.
- (xi) Эндоскопический ответ на основе простого эндоскопического индекса активности болезни Крона (SES-CD). SES-CD основана на
- 20 эндоскопической оценке 4 компонентов в 5 илеоколонических участках с общим количеством баллов от 0 до 56.
- (xii) Клиническая ремиссия без кортикостероидов на неделе 48, определяемая как CDAI < 150 на неделе 48, и отсутствие приема кортикостероидов на неделе 48.
- 25 (xiii) PRO-2 ремиссия на неделе 48, определяемая на основе среднесуточной частоты стула (SF) и среднесуточной оценки боли в области живота (AP); Реакция на усталость на 12 неделе, определяемая на основе
- 30 информационной системы для оценки результатов, сообщаемых пациентом (PROMIS). Краткая форма оценки усталости 7a содержит 7 пунктов, которые оценивают тяжесть утомления, причем более высокие баллы указывают на большее утомление.

В других вариантах осуществления поддерживающую дозу антитела к IL12/23p40 вводят каждые 4 недели после лечения на 16 неделе, каждые 8 недель после

лечения на 16 неделе, или каждые 12 недель после лечения на 16 неделе, и клинический ответ сохраняется у субъекта в течение по меньшей мере 48 недель.

В определенных вариантах осуществления в настоящей заявке предложен способ лечения болезни Крона у субъекта, причем антитело к IL12/23p40 для применения при в/в введении находится в фармацевтической композиции, содержащей раствор, содержащий 10 мМ L-гистидина, 8,5% (масс./об.) сахарозы, 0,04% (масс./об.) полисорбата 80, 0,4 мг/мл L-метионина и 20 мкг/мл дегидрата динатриевой соли ЭДТА, рН 6,0.

В определенных вариантах осуществления в настоящей заявке предложен клинически подтвержденный безопасный и клинически подтвержденный эффективный способ лечения болезни Крона у субъекта, причем антитело к IL12/23p40 для применения при в/в введении находится в фармацевтической композиции, содержащей раствор, содержащий 6,7 мМ L-гистидина, 7,6% (масс./об.) сахарозы, 0,004% (масс./об.) полисорбата 80, рН 6,0.

15 КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ГРАФИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ

Предшествующее краткое изложение, а также последующее подробное описание изобретения станут более понятными при рассмотрении вместе с прилагаемыми графическими материалами. Необходимо понимать, что изобретение не ограничено точными вариантами осуществления, показанными на графических материалах.

На ФИГ. 1 показана схема исследования коррекции целевой величины STARDUST фазы 3b антитела к IL-12/IL-23p40 (устекинумаба) при болезни Крона.

На ФИГ. 2 показана блок-схема решений о лечении по поводу коррекции дозы антитела к IL-12/IL-23p40 (устекинумаб) для исследования.

25 На ФИГ. 3 показано распределение участников (RAS) в исследовании.

На ФИГ. 4 показано распределение участников (RAS) в исследовании рандомизированных в группу лечения до достижения цели (T2T) и группу стандартного лечения (SoC).

30 На ФИГ. 5А (NRI) и ФИГ. 5Б (LOCF) приведены результаты эндоскопии на 48 неделе (левая колонка T2T и правая колонка SoC) с р-значениями (номинальными) на основе критерия Кохрена-Мантеля-Хензеля, двусторонний уровень α 0,05, стратифицированный по исходному показателю SES-CD (≤ 16 , > 16) и предшествующему воздействию биологических препаратов (отсутствие или 1). Пациенты с отсутствующей оценкой эндоскопического ответа считаются не

отвечающими на лечение/не имеющими ремиссии. Эндоскопический ответ определяется как снижение по сравнению с исходным уровнем по SES-CD на $\geq 25\%$ или 100%. Эндоскопическая ремиссия определяется как оценка по SES-CD ≤ 2 .

Заживление слизистой оболочки определяется как полное отсутствие изъязвлений слизистой оболочки в любом подвздошно-ободочном сегменте. Эндоскопический ответ без кортикостероидов определяется как снижение показателя по шкале SES-CD по сравнению с исходным уровнем на $\geq 50\%$ и отсутствие приема каких-либо кортикостероидов в течение как минимум 30 дней до конечной точки. LOCF (ФИГ. 5Б) — использование последнего документированного значения; NRI (ФИГ. 5А) — замена недостающих значений данными об отсутствии ответа на лечение.

На ФИГ. 6А (NRI) и ФИГ. 6Б (LOCF) приведены клинические результаты на 48 неделе (левая колонка T2T и правая колонка SoC) с р-значениями (номинальными) на основе критерия Кохрена-Мантеля-Хензеля, двусторонний уровень α 0,05, стратифицированный по исходному показателю SES-CD (≤ 16 , > 16) и предшествующему воздействию биологических препаратов (отсутствие или 1). Пациенты с отсутствующими данными эндоскопического ответа считаются не отвечающими на лечение/не имеющими ремиссии. Ответ по шкале CDAI 70 определяется как улучшение общей оценки по CDAI на ≥ 70 пунктов по сравнению с исходным уровнем. Клинический ответ определяется как снижение на ≥ 100 пунктов от исходного уровня общего балла по CDAI или общий балл < 150 . Клиническая ремиссия определяется как общая оценка по CDAI ≤ 150 баллов. На 48-й неделе высокие показатели клинического ответа были достигнуты в группах T2T и SoC: 68,2% по сравнению с 77,8% ($p = 0,0212$; NRI) /89,5% по сравнению с 89,6% (незначительная [NS]; LOCF); клиническая ремиссия 61,4% по сравнению с 69,7% (NS; NRI) /76,8% по сравнению с 78,3% (NS; LOCF). T2T ($n = 220$) и SoC ($n = 221$).

На ФИГ. 7 показан эндоскопический ответ (улучшение по SES-CD на $\geq 50\%$ [95% ДИ] на 48-й неделе (RAS) с $n = 220$ для T2T (левый столбец) и $n = 221$ для SoC (правый столбец). $p < 0,05$. Субъектов с отсутствующими данными анализировали как не имевших ответа. Значения p (номинальные) основаны на результатах критерия Кохрена-Мантеля-Хензеля, двустороннем α уровне 0,05, стратифицированном по исходному показателю по SES-CD (≤ 16 , > 16) и предшествующему воздействию биологических препаратов (0 или 1). У субъектов, у которых отсутствует оценка по шкале SES-CD на 48-й неделе или которые прекратили лечение до достижения 48-й недели, будет перенесена вперед последняя оценка по шкале SES-CD. Все

рандомизированные пациенты, за исключением субъектов, прекративших лечение до достижения 48-й недели по причинам, не связанным с отсутствием/потерей эффективности.

5 На ФИГ. 8 показаны клинические исходы на 48-й неделе (RAS NRI) с $n = 220$ для T2T (левый столбец) и $n = 221$ для SoC (правый столбец). $P < 0,05$, p -значения (номинальные) основаны на результатах критерия Кохрена-Мантеля-Хензеля, двустороннем уровне $\alpha 0,05$, стратифицированном по исходному показателю по SES-CD (≤ 16 , > 16) и предшествующему воздействию биологических препаратов (отсутствие или 1). Субъекты с отсутствующей оценкой эндоскопического ответа
10 считаются не отвечающими на лечение/не имеющими ремиссии. Ответ по шкале CDAI 70 определяется как улучшение общей оценки по CDAI на ≥ 70 пунктов по сравнению с исходным уровнем. Клинический ответ определяется как снижение на ≥ 100 пунктов от исходного уровня общего балла по CDAI или общий балл < 150 . Клиническая ремиссия определяется как общая оценка по CDAI ≤ 150 баллов.
15 Клиническая ремиссия без кортикостероидов в конечной точке определяется как балл по шкале CDAI < 150 и отсутствие приема кортикостероидов в течение ≥ 30 дней до оценки конечной точки.

20 На ФИГ. 9 показаны клинические исходы на 48-й неделе (RAS LOCF) с $n = 220$ для T2T (левый столбец) и $n=221$ для SoC (правый столбец). p -значения (номинальные) основаны на результатах критерия Кохрена-Мантеля-Хензеля, двустороннем уровне $\alpha 0,05$, стратифицированном по исходному показателю SES-CD (≤ 16 , > 16) и предшествующему воздействию биологических препаратов (отсутствие или 1). ^b Ответ CDAI 70 определяется как улучшение общего балла CDAI ≥ 70 баллов по сравнению с исходным уровнем. ^c Клинический ответ определяется как снижение на ≥ 100 баллов по сравнению с исходным общим баллом по CDAI или общий балл по CDAI < 150 . ^d
25 Клиническая ремиссия определяется как общий балл по CDAI < 150 . ^e Клиническая ремиссия без кортикостероидов в конечной точке определяется как балл по CDAI < 150 и отсутствие приема кортикостероидов в течение ≥ 30 дней до оценки конечной точки.

30 На ФИГ. 10А (NRI RAS) и ФИГ. 10Б (RAS LOCF) показаны результаты определения биомаркеров относительно количества пациентов (% на оси Y). На ФИГ. 10А $p < 0,05$ со значениями p (номинальными) основаны на результатах критерия Кохрена-Мантеля-Хензеля, двустороннем уровне $\alpha 0,05$, стратифицированный по исходному показателю по SES-CD (≤ 16 , > 16) и предшествующему воздействию биологических препаратов (0 или 1). Субъектов с отсутствующими данными

приравнивали к не имеющим улучшения. Улучшение показателя fCal определяется как снижение fCal по сравнению с исходным уровнем на $\geq 50\%$. Субъектов с нормализованным показателем fCal (≤ 250 мкг/г) на исходном уровне исключают. Улучшение по показателю CRP определяют как снижение CRP по сравнению с исходным уровнем на $\geq 50\%$. Субъектов с нормализованным уровнем CRP (≤ 3 мг/л) на исходном уровне исключают. Нормализованный показатель fCal определяют как fCal ≤ 250 мкг/г. Исключают субъектов с нормализованным mfCal на исходном уровне. Нормализованный показатель CRP определяют как CRP ≤ 3 мг/л. Исключают субъектов с нормализованным CRP на исходном уровне. Полный ответ биомаркера определяют как нормализованные показатели CRP и fCal. Субъектов с нормализованными CRP и fCal на исходном уровне, а также субъектов с отсутствующим CRP и fCal на исходном уровне исключают. Нормализованный показатель CRP определяют как CRP ≤ 3 мг/л. Нормализованный показатель fCal определяют как fCal ≤ 250 мкг/г. На ФИГ. 10Б значения p (номинальные) основаны на результатах критерия Кохрена-Мантеля-Хензеля, двустороннем уровне $\alpha 0,05$, стратифицированном по исходному показателю по SES-CD ($\leq 16, > 16$) и предшествующему воздействию биологических препаратов (отсутствует или 1). Улучшение по показателю fCal определяют как снижение fCal по сравнению с исходным уровнем на $\geq 50\%$. Субъектов с нормализованным показателем fCal (≤ 250 мкг/г) на исходном уровне исключают. Улучшение по показателю CRP определяют как снижение CRP по сравнению с исходным уровнем на $\geq 50\%$. Субъектов с нормализованным уровнем CRP (≤ 3 мг/л) на исходном уровне исключают. Нормализованный показатель fCal определяют как fCal ≤ 250 мкг/г. Исключают субъектов с нормализованным mfCal на исходном уровне. Нормализованный показатель CRP определяют как CRP ≤ 3 мг/л. Исключают субъектов с нормализованным CRP на исходном уровне. Полный ответ биомаркера определяют как нормализованные показатели CRP и fCal. Субъектов с нормализованными CRP и fCal на исходном уровне, а также субъектов с отсутствующим CRP и fCal на исходном уровне исключают. Нормализованный показатель CRP определяют как CRP ≤ 3 мг/л. Нормализованный показатель fCal определяют как fCal ≤ 250 мкг/г.

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

В разделе «Предпосылки создания изобретения» и в тексте настоящей заявки приведены цитаты или описания различных публикаций, статей и патентов; причем каждая из этих ссылок полностью включена в настоящее описание путем ссылки.

Описание документов, актов, материалов, устройств, изделий и т. п., которые были включены в настоящее описание, приведено в качестве контекста для изобретения. Такое описание не является допущением того, что любой из таких источников или все такие источники являются частью предшествующего уровня техники в отношении
5 каких-либо описываемых или заявленных изобретений.

Если не указано иное, все технические и научные термины в настоящем документе имеют общепринятое значение, понятное любому специалисту в области, к которой относится данное изобретение. В ином случае определенные термины в настоящем документе имеют значения, установленные в описании. Все патенты,
10 опубликованные заявки на патенты и публикации, процитированные в настоящем документе, включены в него путем ссылки, как если бы они были полностью изложены в настоящем документе.

Необходимо отметить, что в настоящем документе и в приложенной формуле изобретения форма единственного числа включает объекты и во множественном числе,
15 если из контекста явно не следует иное.

Если не указано иное, термин «по меньшей мере», предшествующий ряду элементов, следует понимать как относящийся к каждому элементу в этом ряду. Специалисты в данной области смогут определять или с помощью лишь стандартных экспериментов смогут устанавливать множество эквивалентов конкретных вариантов осуществления
20 изобретения, описанных в настоящем документе. Подразумевается, что такие эквиваленты включены в изобретение.

На протяжении всего данного описания и последующей формулы изобретения, если контекст не требует иного, слово «содержать» и его вариации, такие как «содержит» и «содержащий», следует понимать как означающие включение
25 упомянутого целого числа или стадии, или группы целых чисел или стадий, но не исключение любого другого целого числа или стадии или группы целых чисел или стадий. При применении в настоящем документе термин «содержащий» может быть заменен термином «состоящий из» или «включающий в себя» или иногда при применении в настоящем документе может быть заменен термином «имеющий».

При применении в настоящем документе термин «состоящий из» исключает
30 любой элемент, стадию или ингредиент, не упомянутый в элементе формулы изобретения. При применении в настоящем документе термин «состоящий по существу из» не исключает материалы или стадии, которые не оказывают существенного влияния на основные и новые характеристики формулы изобретения. Любые из

вышеупомянутых терминов «содержащий», «состоящий из», «включающий» и «имеющий» при применении в настоящем документе в контексте аспекта или варианта осуществления описания могут быть заменены термином «состоящий из» или «состоящий по существу из» для варьирования объемов описания.

5 В настоящем документе соединительный термин «и/или» между множеством перечисляемых элементов следует понимать как включающий как отдельные, так и комбинированные варианты. Например, если два элемента соединены «и/или», первый вариант относится к возможности применения первого элемента без второго. Второй вариант относится к возможности применения второго элемента без первого. Третий вариант относится к возможности одновременного применения первого и второго элементов. Подразумевается, что любой из этих вариантов соответствует значению и, соответственно, удовлетворяет требованию термина «и/или» в контексте данного документа. Кроме того, подразумевается, что одновременное применение более одного из этих вариантов соответствует значению и, соответственно, удовлетворяет
10 требованию термина «и/или».

Используемый в настоящем документе термин «субъект» означает любое животное, предпочтительно млекопитающее, наиболее предпочтительно человека, которое будет или было подвергнуто лечению способом в соответствии с вариантом осуществления изобретения. В настоящем документе термин «млекопитающее»
20 охватывает любое млекопитающее. Примеры млекопитающих включают, без ограничений, коров, лошадей, овец, свиней, кошек, собак, мышей, крыс, кроликов, морских свинок, приматов, не относящихся к человеку (NHP), таких как низшие и высшие обезьяны, людей и т. п., более предпочтительно человека.

Используемый в настоящем документе термин «в комбинации» в контексте введения субъекту двух или более лекарственных средств относится к применению более одной терапии. Использование термина «в комбинации» не ограничивает порядок введения лекарственных средств субъекту. Например, первое терапевтическое средство (например, описанную в настоящем документе композицию) можно вводить перед введением (например, за 5 минут, 15 минут, 30 минут, 45 минут, 1 час, 2 часа, 4 часа, 6 часов, 12 часов, 16 часов, 24 часа, 48 часов, 72 часа, 96 часов, 1 неделю, 2
30 недели, 3 недели, 4 недели, 5 недель, 6 недель, 8 недель или 12 недель), после (например, через 5 минут, 15 минут, 30 минут, 45 минут, 1 час, 2 часа, 4 часа, 6 часов, 12 часов, 16 часов, 24 часа, 48 часов, 72 часа, 96 часов, 1 неделю, 2 недели, 3 недели, 4

недели, 5 недель, 6 недель, 8 недель или 12 недель) введения второго терапевтического средства субъекту или одновременно с таким введением.

При использовании в настоящем документе термины «антитело к IL12/23p40» или «антитело к IL12/23» относятся к моноклональному антителу (мАт) или его антигенсвязывающему фрагменту, который связывается с субъединицей 40 кДа (p40), общей для таких цитокинов, как интерлейкин-12 и интерлейкин-23 (IL12/23p40). Антитело может влиять на по меньшей мере один вид активности или функцию IL12/23, например, без ограничений, синтез РНК, ДНК или белка, высвобождение IL12/23, передачу сигнала посредством рецептора IL12/23, расщепление IL12/23 на мембране, активность IL12/23, продукцию и/или синтез IL12/23.

Предполагается, что термин «антитело» будет дополнительно охватывать антитела, фрагменты расщепления, их определенные участки и варианты, включая миметики антител, или содержать участки антител, которые имитируют структуру и/или функцию антитела или его определенного фрагмента или участка, включая одноцепочечные антитела и их фрагменты. Функциональные фрагменты включают антигенсвязывающие фрагменты, которые связываются с IL-12/23 млекопитающего. Например, изобретение охватывает фрагменты антитела, способные связываться с IL-12/23 или их участками, включая, без ограничений, фрагменты Fab (например, после расщепления папаином), Fab' (например, после расщепления пепсином и частичного восстановления) и F(ab')₂ (например, после расщепления пепсином), Fab_b (например, после расщепления плазмином), pFc' (например, после расщепления пепсином или плазмином), Fd (например, после расщепления пепсином, частичного восстановления и агрегации), Fv или scFv (например, методиками молекулярной биологии) (см., например, Colligan, Immunology, упомянутую выше).

Такие фрагменты можно получать путем ферментативного расщепления, способами синтеза или рекомбинации, известными в данной области и/или описанными в настоящем документе. Антитела можно также продуцировать в различных укороченных формах с помощью генов антител, в которых один или более стоп-кодона были введены выше естественного сайта терминации. Например, возможно создание комбинированного гена, кодирующего участок тяжелой цепи F(ab')₂, который может включать последовательности ДНК, кодирующие домен C_H1 и/или шарнирную область тяжелой цепи. Различные участки антител можно химически соединять стандартными способами или получать в виде единого белка способами генной инженерии.

В контексте настоящего документа термин «человеческое антитело» относится к антителу, в котором по существу каждая часть белка (например, CDR, каркас, домены C_L, C_H (например, C_H1, C_H2, C_H3), шарнир, домены V_L, V_H) является по существу неиммуногенной у человека, лишь с незначительными изменениями или вариациями последовательности. «Человеческое антитело» может также представлять собой антитело, которое получено из последовательностей иммуноглобулина зародышевой линии человека или точно соответствует им. Человеческие антитела могут включать аминокислотные остатки, не кодируемые последовательностями иммуноглобулина зародышевой линии (например, мутации, введенные случайным или сайт-специфичным мутагенезом *in vitro* или соматической мутацией *in vivo*). Часто это означает, что человеческое антитело является по существу неиммуногенным у человека.

Человеческие антитела классифицируют в группы на основании сходства их аминокислотных последовательностей. Таким образом, посредством поиска по сходству последовательностей можно выбирать антитело со сходной линейной последовательностью в качестве шаблона для создания человеческого антитела.

Аналогично антитела определенного примата (обезьяна, павиан, шимпанзе и т. д.), грызуна (мышь, крыса, кролик, морская свинка, хомяк и т. п.) и других млекопитающих определяют особенностями антител такого вида, подрода, рода, подсемейства и семейства. Химерные антитела могут дополнительно включать любую комбинацию, указанную выше. Из-за таких изменений или вариаций необязательно и предпочтительно сохраняется или ослабевает иммуногенность у человека или другого вида относительно немодифицированных антител. Таким образом, человеческое антитело отличается от химерного или гуманизированного антитела.

Следует отметить, что человеческое антитело может быть спродуцировано не относящимся к человеку животным, либо прокариотической или эукариотической клеткой, которая способна экспрессировать функционально перестроенные гены человеческих иммуноглобулинов (например, тяжелую цепь и/или легкую цепь). Когда человеческое антитело является одноцепочечным антителом, оно может дополнительно содержать линкерный пептид, который отсутствует в нативных человеческих антителах. Например, Fv может содержать линкерный пептид, такой как от двух до около восьми остатков глицина или других аминокислот, который соединяет переменную область тяжелой цепи и переменную область легкой цепи. Считается, что такие линкерные пептиды имеют человеческое происхождение.

Антитела к IL12/23p40 (также называемые антителами к IL12/23), используемые в способах и композициях настоящего изобретения, могут необязательно характеризоваться высокой аффинностью связывания с IL12/23p40, причем необязательно и предпочтительно имеют низкую токсичность. В частности, в настоящем изобретении используют антитело, определенный фрагмент или вариант изобретения, причем отдельные компоненты, такие как переменная область, константная область и каркас, по отдельности и/или в совокупности, необязательно и предпочтительно имеют низкую иммуногенность. Антитела, которые можно использовать в изобретении, необязательно характеризуются способностью оказывать лечебное действие на субъектов в течение продолжительного периода, с поддающимся измерению ослаблением симптомов и низкой и/или приемлемой токсичностью. Низкая или допустимая иммуногенность и/или высокая аффинность, а также другие приемлемые свойства могут способствовать достижению терапевтических результатов. Под «низкой иммуногенностью» в настоящем документе понимается индуцирование значительных ответов антител НАНА, НАСА или НАМА у менее около 75%, или предпочтительно у менее около 50% получающих лечение субъектов, и/или индуцирование низких титров у получающих лечение субъектов (менее около 300, предпочтительно менее около 100, по результатам измерения иммуноферментным анализом с двойным антигеном) (см. публикацию Elliott et al., Lancet 344:1125-1127 (1994), которая полностью включена в настоящий документ путем ссылки). Термин «низкая иммуногенность» можно также определить как возникновение поддающихся титрованию уровней антител против антитела к IL-12 у субъектов, которых лечили антителом к IL-12, встречающееся у менее 25% получающих лечение субъектов, предпочтительно у менее 10% получающих лечение субъектов, при рекомендованной дозе в течение рекомендованного курса терапии в период лечения.

В настоящем документе термины «клинически подтвержденная эффективность» или «клинически подтвержденный эффективный» в контексте дозы, схемы дозирования, лечения или способа относятся к эффективности конкретной дозы, дозировки или схемы лечения. Эффективность можно измерять на основании изменений течения заболевания в ответ на введение агента настоящего изобретения. Например, антитело к IL12/23p40 настоящего изобретения (например, устекинумаб) вводят субъекту в количестве и в течение времени, которых достаточно для индуцирования улучшения, предпочтительно стойкого улучшения, в отношении по меньшей мере одного показателя, который отражает тяжесть расстройства,

подвергаемого лечению. Различные показатели, отражающие степень заболевания, болезни или состояния субъекта, могут быть оценены для определения, достаточно ли времени лечения. Такие показатели включают, например, клинически признанные показатели тяжести заболевания, симптомов или проявлений рассматриваемого расстройства. Степень улучшения по существу определяет врач, который может узнать это на основании признаков, симптомов, биопсий или результатов других тестов и который может использовать анкеты, предлагаемые субъекту, такие как анкеты оценки качества жизни, разработанные для данного заболевания. Например, антитело к р40 IL-12/23 или к IL23 по настоящему изобретению можно вводить для достижения клинической ремиссии или улучшения состояния, связанного с болезнью Крона, у субъекта.

Улучшение может быть связано с улучшением показателя активности заболевания, облегчением клинических симптомов или улучшением любой другой меры активности заболевания, как описано в настоящем документе. Одним из таких показателей заболевания является индекс активности болезни Крона (CAAI) или простой эндоскопический индекс активности болезни Крона (SES-CD).

Термин «клинический ответ», используемый в настоящем документе, относится к ответу субъекта на введение лекарственного средства, а также может относиться к «клинической ремиссии», измеряемой при болезни Крона и известной в данной области.

Термин «клинически подтвержденный безопасный» в отношении дозы, режима дозирования, лечения или способа, включающего антитело к IL12/IL-23p40 настоящего изобретения (например, устекинумаб), относится к благоприятному соотношению «риск : польза» с приемлемой частотой и/или приемлемой тяжестью связанных с лечением нежелательных явлений (называемых НЯ или ВПЛНЯ) по сравнению со стандартным лечением или другим препаратом сравнения. При использовании в настоящем документе термины «нежелательное явление», «связанное с лечением нежелательное явление» и «нежелательная реакция» означают любой вредный, неблагоприятный, непреднамеренный или нежелательный признак или результат, связанный с введением фармацевтической композиции или терапевтического средства или вызванный таким введением. Сюда относится неблагоприятное медицинское событие у субъекта, которому ввели лекарственный препарат. Однако ненормальные значения или наблюдения не регистрируют как нежелательные явления, если только исследователь не посчитает их клинически значимыми. При использовании в

настоящем документе термин «клинически выраженный» означает клинически значимый согласно оценке врача или исследователя на основании стандарта, приемлемого для среднего специалиста в данной области. Если нанесенный вред или нежелательный результат нежелательных явлений достигает такого уровня тяжести, регулирующей орган может посчитать, что фармацевтическая композиция или терапевтическое средство является неприемлемым для предлагаемого применения. В частности, термин «безопасный» в отношении дозы, режима дозирования или лечения антителом к IL12/23p40 настоящего изобретения относится к приемлемой частоте и/или приемлемой тяжести неблагоприятных явлений, связанных с введением антитела, если их возникновение считается возможно, вероятно или очень вероятно связанным с применением антитела к IL12/23p40.

При использовании в настоящем документе, если не указано иное, термин «клинически доказанный» (используемый независимо или для модификации терминов «безопасный» и/или «эффективный») означает, что доказательство было получено в клиническом исследовании фазы III, причем клиническое исследование соответствовало стандартам Управления по надзору за качеством продуктов питания и медикаментов США, Европейского агентства лекарственных средств (EMA) или соответствующего национального регулирующего органа. Например, клиническое исследование может представлять собой рандомизированное двойное слепое исследование соответствующего объема, применяемое для клинического подтверждения эффектов лекарственного средства.

При использовании в настоящем документе доза антитела к IL12/IL23p40 в «мг/кг» относится к количеству антитела к IL12/IL23p40 в миллиграммах на килограмм массы тела субъекта, которому вводят антитело.

Антитела настоящего изобретения. Продукция и генерация

По меньшей мере одно антитело к IL12/IL23p40, применяемое в способе настоящего изобретения, можно необязательно продуцировать в клеточной линии, смешанной клеточной линии, иммортализованной клетке или клональной популяции иммортализованных клеток, как хорошо известно специалистам в данной области. См., например, публикации Ausubel, et al., ed., Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons, Inc., NY, NY (1987–2001); Sambrook, et al., Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 2nd Edition, Cold Spring Harbor, NY (1989); Harlow and Lane, Antibodies, a Laboratory Manual, Cold Spring Harbor, NY (1989); Colligan, et al., eds., Current Protocols in Immunology, John Wiley & Sons, Inc., NY (1994–2001); Colligan et al.,

Current Protocols in Protein Science, John Wiley & Sons, NY, NY, (1997–2001), каждая из которых полностью включена в настоящий документ путем ссылки.

Человеческие антитела, специфичные к белкам PL-12/23p40 человека или их фрагментам, можно получать в ответ на подходящий иммуногенный антиген, такой как
 5 выделенный белок PL-12/23p40, белок PL-23 и/или их участок (включая синтетические молекулы, такие как синтетические пептиды). Другие специфичные или общие антитела млекопитающих можно получать аналогичным образом. Иммуногенные антигены и продукцию моноклонального антитела можно получать любой приемлемой методикой с учетом настоящего описания.

10 В одном подходе гибридомы продуцируют путем слияния приемлемой иммортализованной клеточной линии (например, клеточной линии миеломы, такой как, без ограничений, Sp2/0, Sp2/0-AG14, NSO, NS1, NS2, AE-1, L.5, L243, P3X63Ag8.653, Sp2 SA3, Sp2 MAI, Sp2 SS1, Sp2 SA5, U937, MLA 144, ACT IV, MOLT4, DA-1, JURKAT, WENI, K-562, COS, RAJI, NIH 3T3, HL-60, MLA 144, NAMALWA, NEURO
 15 2A или т. п., или гетеромиелом, их продуктов слияния или любых клеток или слитых клеток, полученных из них, или любой другой приемлемой клеточной линии, известной в данной области) (см., например, www.atcc.org, www.lifetech.com и т. п.), с продуцирующими антитела клетками, такими как, без ограничений, выделенные или клонированные клетки селезенки, периферической крови, лимфы, миндалин или другие
 20 иммунные клетки, или клетки с В-клетками или любыми другими клетками, экспрессирующими последовательности константной, или вариабельной, или каркасной областей, или CDR тяжелой или легкой цепи, в виде либо эндогенной, либо гетерологичной нуклеиновой кислоты, в виде рекомбинантной или эндогенной геномной ДНК, кДНК, рДНК, митохондриальной ДНК или РНК, хлоропластной ДНК
 25 или РНК, гетерогенной ядерной (гя) РНК, мРНК, тРНК, одно-, двух- или трехцепочечной, гибридной и т. п. или любой их комбинации, происходящей из вирусов, бактерий, водорослей, прокариот, земноводных, насекомых, рептилий, рыб, млекопитающих, грызунов, лошадей, овец, коз, баранов, приматов, эукариот. См., например, Ausubel, выше, и Colligan, Immunology, выше, глава 2, полностью
 30 включенные в настоящий документ путем ссылки.

Клетки, продуцирующие антитела, можно также получать из периферической крови или предпочтительно из селезенки или лимфатических узлов человека или других приемлемых животных, которые были иммунизированы интересующим антигеном. Для экспрессии гетерологичной или эндогенной нуклеиновой кислоты,

кодирующей антитело, его определенный фрагмент или вариант настоящего изобретения, можно также использовать любую другую приемлемую клетку-хозяина. Слитые клетки (гибридомы) или рекомбинантные клетки можно выделять с помощью селективных условий культивирования или других известных приемлемых способов и клонировать путем предельного разведения или сортировки клеток или других известных способов. Клетки, продуцирующие антитела с требуемой специфичностью, могут быть выбраны с помощью приемлемого анализа (например, ИФА).

Можно применять другие приемлемые способы продукции или выделения антител требуемой специфичности, включая, без ограничений, способы отбора рекомбинантного антитела из библиотеки пептидов или белков (например, без ограничений, библиотеки дисплея бактериофагов, рибосом, олигонуклеотидов, РНК, кДНК или т. п.; например, производства компаний Cambridge antibody Technologies, Cambridgeshire, Великобритания; MorphoSys, Martinsreid/Planegg, Германия; Biovation, Aberdeen, Scotland, Великобритания; BioInvent, Lund, Швеция; Dyax Corp., Enzon, Affymax/Biosite; Xoma, Berkeley, штат Калифорния, США; Ixsys. См., например, EP 368,684, PCT/GB91/01134; PCT/GB92/01755; PCT/GB92/002240; PCT/GB92/00883; PCT/GB93/00605; US 08/350260 (12.05.94); PCT/GB94/01422; PCT/GB94/02662; PCT/GB97/01835; (CAT/MRC); WO90/14443; WO90/14424; WO90/14430; PCT/US94/1234; WO92/18619; WO96/07754; (Scripps); WO96/13583, WO97/08320 (MorphoSys); WO95/16027 (BioInvent); WO88/06630; WO90/3809 (Dyax); US 4,704,692 (Enzon); PCT/US91/02989 (Affymax); WO89/06283; EP 371 998; EP 550 400; (Xoma); EP 229 046; PCT/US91/07149 (Ixsys); или стохастически полученных пептидов или белков — US 5723323, 5763192, 5814476, 5817483, 5824514, 5976862, WO 86/05803, EP 590 689 (Ixsys, предварительная публикация в Applied Molecular Evolution (AME); причем каждая из них включена в настоящий документ путем ссылки)), или способами, основанными на иммунизации трансгенных животных (например, мышей SCID, см. Nguyen et al., Microbiol. Immunol. 41:901-907 (1997); Sandhu et al., Crit. Rev. Biotechnol. 16:95-118 (1996); Eren et al., Immunol. 93:154–161 (1998), причем каждая публикация полностью включена в настоящий документ путем ссылки, как и смежные патенты и заявки), которые способны продуцировать набор человеческих антител, как известно специалистам в данной области и/или описано в настоящем документе. Такие методики включают, без ограничений, рибосомный дисплей (Hanes et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 94:4937–4942 (Jan 1997); Hanes et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 95:14130–14135 (Nov. 1998)); технологии продукции антител из одиночной клетки (например, способ

получения антител из отобранных лимфоцитов (SLAM) (патент США № 5,627,052, Wen et al., J. Immunol. 17:887-892 (1987); Babcook et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 93:7843–7848 (1996)); микрокаплю в геле и проточную цитометрию (Powell et al., Biotechnol. 8:333-337 (1990); One Cell Systems, Cambridge, MA; Gray et al., J. Imm. Meth. 5 182:155-163 (1995); Kenny et al., Bio/Technol. 13:787-790 (1995)); отбор В-клеток (Steenbakkers et al., Molec. Biol. Reports 19:125–134 (1994); Jonak et al., Progress Biotech, Vol. 5, In Vitro Immunization in Hybridoma Technology, Borrebaeck, ed., Elsevier Science Publishers B.V., Amsterdam, Netherlands (1988)).

Кроме того, можно применять и хорошо известные специалистам в данной 10 области способы конструирования или гуманизации нечеловеческих или человеческих антител. По существу гуманизованное или модифицированное геной инженерией антитело имеет один или более аминокислотных остатков из источника, не относящегося к человеку, например, без ограничений, мыши, крысы, кролика, приматов (исключая человека) или других млекопитающих. Эти аминокислотные 15 остатки нечеловеческого происхождения заменяют остатками, которые часто называют «импортированными» остатками, поскольку их обычно берут из «импортированных» переменных, константных или других доменов известной человеческой последовательности.

Описание известных последовательностей Ig человека приведено, например, на 20 веб-сайтах: www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi; www.ncbi.nih.gov/igblast; www.atcc.org/phage/hdb.html; www.mrc-cpe.cam.ac.uk/ALIGNMENTS.php; www.kabatdatabase.com/top.html; [ftp.ncbi.nih.gov/repository/kabat](ftp://ncbi.nih.gov/repository/kabat); www.sciquest.com; www.abcam.com; www.antibodyresource.com/onlinecomp.html; www.public.iastate.edu/~pedro/research_tools.html; 25 www.whfreeman.com/immunology/CH05/kuby05.htm; www.hhmi.org/grants/lectures/1996/vlab; www.path.cam.ac.uk/~mrc7/mikeimages.html; mcb.harvard.edu/BioLinks/Immunology.html; www.immunologylink.com; pathbox.wustl.edu/~hcenter/index.html; www.appliedbiosystems.com; www.nal.usda.gov/awic/pubs/antibody; www.m.ehime-u.ac.jp/~yasuhito/Elisa.html; 30 www.biodesign.com; www.cancerresearchuk.org; www.biotech.ufl.edu; www.isac-net.org; baserv.uci.kun.nl/~jraats/links1.html; www.recab.uni-hd.de/immuno.bme.nwu.edu; www.mrc-cpe.cam.ac.uk; www.ibt.unam.mx/vir/V_mice.html; http://www.bioinf.org.uk/abs; antibody.bath.ac.uk; www.unizh.ch; www.cryst.bbk.ac.uk/~ubcg07s; www.nimr.mrc.ac.uk/CC/caewg/caewg.html;

www.path.cam.ac.uk/~mrc7/humanisation/ТАННР.html;
www.ibt.unam.mx/vir/structure/stat_aim.html; www.biosci.missouri.edu/smithgp/index.html;
www.jerini.de; см. также Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, U.S. Dept. Health (1983), причем каждый из них полностью включен в настоящий документ
5 путем ссылки.

Как известно специалистам в данной области, такие импортированные последовательности можно применять для снижения иммуногенности или для снижения, усиления или модификации связывания, аффинности, скорости ассоциации, скорости диссоциации, авидности, специфичности, периода полужизни или любой
10 другой приемлемой характеристики. В целом остатки CDR напрямую и в очень значительной степени влияют на связывание с антигеном. Соответственно, сохраняются некоторые или все нечеловеческие или человеческие последовательности CDR, а нечеловеческие последовательности вариабельных и константных областей можно заменять человеческими или иными аминокислотами.

15 Антитела можно также необязательно гуманизировать или конструировать человеческие антитела с сохранением высокой аффинности к антигену и иных благоприятных биологических свойств. Для достижения этой цели гуманизированные (или человеческие) антитела можно необязательно получать в процессе анализа исходных последовательностей и различных концептуальных гуманизированных
20 продуктов с помощью трехмерных моделей исходных и гуманизированных последовательностей. Трехмерные модели иммуноглобулина являются общедоступными и известными специалистам в данной области. Существуют компьютерные программы, демонстрирующие и отображающие вероятные трехмерные конформационные структуры выбранных потенциальных последовательностей
25 иммуноглобулина. Исследование этих изображений позволяет анализировать вероятную роль остатков в функционировании иммуноглобулиновой последовательности кандидата, т. е. проводить анализ остатков, которые влияют на способность иммуноглобулина кандидата связывать свой антиген. Таким образом, из типичных совпадающих и импортированных последовательностей можно выбирать и
30 комбинировать остатки каркасной области (FR) так, чтобы получить требуемую характеристику антитела, например повышенную аффинность к целевому (-ым) антигену (-ам).

Кроме того, человеческое специфическое антитело к IL12/23p40, применяемое в способе настоящего изобретения, может содержать каркас легкой цепи зародышевой

линии человека. В конкретных вариантах осуществления последовательность легкой цепи зародышевой линии выбрана из последовательностей VK человека, включая, без ограничений, A1, A10, A11, A14, A17, A18, A19, A2, A20, A23, A26, A27, A3, A30, A5, A7, B2, B3, L1, L10, L11, L12, L14, L15, L16, L18, L19, L2, L20, L22, L23, L24, L25, L4/18a, L5, L6, L8, L9, O1, O11, O12, O14, O18, O2, O4 и O8. В определенных вариантах осуществления этот каркас легкой цепи зародышевой линии человека выбран из V1-11, V1-13, V1-16, V1-17, V1-18, V1-19, V1-2, V1-20, V1-22, V1-3, V1-4, V1-5, V1-7, V1-9, V2-1, V2-11, V2-13, V2-14, V2-15, V2-17, V2-19, V2-6, V2-7, V2-8, V3-2, V3-3, V3-4, V4-1, V4-2, V4-3, V4-4, V4-6, V5-1, V5-2, V5-4 и V5-6.

10 В других вариантах осуществления человеческое специфическое антитело к IL-12/23p40 (или к IL-23), применяемое в способе настоящего изобретения, может содержать каркас тяжелой цепи зародышевой линии человека. В конкретных вариантах осуществления этот каркас тяжелой цепи зародышевой линии человека выбран из VH1-18, VH1-2, VH1-24, VH1-3, VH1-45, VH1-46, VH1-58, VH1-69, VH1-8, VH2-26, VH2-5, VH2-70, VH3-11, VH3-13, VH3-15, VH3-16, VH3-20, VH3-21, VH3-23, VH3-30, VH3-33, VH3-35, VH3-38, VH3-43, VH3-48, VH3-49, VH3-53, VH3-64, VH3-66, VH3-7, VH3-72, VH3-73, VH3-74, VH3-9, VH4-28, VH4-31, VH4-34, VH4-39, VH4-4, VH4-59, VH4-61, VH5-51, VH6-1 и VH7-81.

20 В конкретных вариантах осуществления вариабельная область легкой цепи и/или вариабельная область тяжелой цепи содержит каркасную область или по меньшей мере участок каркасной области (например, содержащий 2 или 3 подобласти, такие как FR2 и FR3). В определенных вариантах осуществления по меньшей мере FRL1, FRL2, FRL3 или FRL4 является полностью человеческим. В других вариантах осуществления по меньшей мере FRH1, FRH2, FRH3 или FRH4 является полностью человеческим. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере FRL1, FRL2, FRL3 или FRL4 представляет собой последовательность зародышевой линии (например, зародышевой линии человека) или содержит типичные совпадающие последовательности человека для данной каркасной области (широкодоступные из источников известных последовательностей Ig человека, описанных выше). В других вариантах осуществления по меньшей мере FRH1, FRH2, FRH3 или FRH4 представляет собой последовательность зародышевой линии (например, зародышевой линии человека) или содержит типичные совпадающие последовательности человека для данной каркасной области. В предпочтительных вариантах осуществления каркасная область представляет собой полностью человеческую каркасную область.

Гуманизацию или конструирование антител настоящего изобретения можно выполнять с помощью любого известного способа, такого как, без ограничений, способ, описанный в: Winter (Jones et al., Nature 321:522 (1986); Riechmann et al., Nature 332:323 (1988); Verhoeven et al., Science 239:1534 (1988)), Sims et al., J. Immunol. 151: 2296 (1993); Chothia and Lesk, J. Mol. Biol. 196:901 (1987), Carter et al., Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 89:4285 (1992); Presta et al., J. Immunol. 151:2623 (1993), патентах США №: 5723323, 5976862, 5824514, 5817483, 5814476, 5763192, 5723323, 5,766886, 5714352, 6204023, 6180370, 5693762, 5530101, 5585089, 5225539; 4816567, PCT: US98/16280, US96/18978, US91/09630, US91/05939, US94/01234, GB89/01334, GB91/01134, GB92/01755; WO90/14443, WO90/14424, WO90/14430, EP 229246, причем каждый полностью включен в настоящий документ путем ссылки, включая приведенные в нем ссылки.

В определенных вариантах осуществления антитело содержит измененную (например, мутантную) область Fc. Например, в некоторых вариантах осуществления область Fc была изменена для ослабления или усиления эффекторных функций антитела. В некоторых вариантах осуществления область Fc представляет собой изотип, выбранный из IgM, IgA, IgG, IgE или другого изотипа. В альтернативном или дополнительном варианте осуществления можно использовать сочетание аминокислотных модификаций с одной или более дополнительными аминокислотными модификациями аминокислот, которые изменяют связывание с C1q и/или функцию зависимой от комплемента цитотоксичности в области Fc молекулы, связывающей IL-23. Особый интерес может представлять такой начальный полипептид, который связывается с C1q и проявляет комплемент-зависимую цитотоксичность (CDC). Полипептиды с исходной активностью связывания с C1q, необязательно дополнительно обладающие способностью опосредовать CDC, можно модифицировать так, что одна или обе этих активности усиливаются. Модификации аминокислот, которые приводят к изменению C1q и/или модифицируют его функцию комплементзависимой цитотоксичности, описаны, например, в публикации WO0042072, которая включена в настоящий документ путем ссылки.

Как описано выше, можно сконструировать Fc-область человеческого антитела к IL12/23p40 по настоящему изобретению с измененной эффекторной функцией, например, путем модификации связывания C1q и/или связывания FcγR и, таким образом, изменения активности комплементзависимой цитотоксичности (CDC) и/или активности антителозависимой клеточно-опосредованной цитотоксичности (ADCC).

«Эффекторные функции» отвечают за активацию или уменьшение биологической активности (например, у субъекта). Примеры эффекторных функций включают, без ограничений: связывание с C1q; CDC; связывание с Fc-рецептором; ADCC; фагоцитоз; угнетение рецепторов клеточной поверхности (например, рецептора В-клеток; BCR) и т. д. Для таких эффекторных функций может потребоваться, чтобы область Fc была объединена со связывающим доменом (например, переменным доменом антитела), и можно их оценивать с помощью различных анализов (например, анализ связывания Fc, анализ ADCC, анализ CDC и т. д.).

Например, можно генерировать вариант области Fc человеческого антитела к IL12/23p40 с улучшенным связыванием C1q и с улучшенным связыванием FcγRIII (например, обладающий и повышенной активностью ADCC, и повышенной активностью CDC). В альтернативном варианте осуществления, если требуется снизить или устранить эту эффекторную функцию, можно конструировать вариантную Fc-область со сниженной активностью CDC и/или со сниженной активностью ADCC. В других вариантах осуществления можно повышать только одну из этих активностей и необязательно также снижать другую активность (например, генерировать вариантную Fc-область с повышенной активностью ADCC, но со сниженной активностью CDC, и наоборот).

Мутации Fc можно также вводить в конструкции для изменения их взаимодействия с неонатальным рецептором Fc (FcRn) и улучшения их фармакокинетических свойств. Была описана коллекция вариантов Fc человека с улучшенным связыванием с FcRn (Shields et al., (2001). High resolution mapping of the binding site on human IgG1 for FcγRI, FcγRII, FcγRIII, and FcRn and design of IgG1 variants with improved binding to the FcγR, J. Biol. Chem. 276:6591-6604).

Другой тип замены аминокислот служит для изменения модели гликозилирования области Fc человеческого антитела, специфичного к IL12/23p40. Гликозилирование области Fc является, как правило, либо N-связанным, либо O-связанным. N-связанное гликозилирование относится к присоединению углеводной функциональной группы к боковой цепи остатка аспарагина. O-связанное гликозилирование относится к присоединению одного из сахаров N-ацетилгалактозамина, галактозы или ксилозы к гидроксиаминокислоте, чаще всего к серину или треонину, хотя также можно использовать 5-гидроксипролин или 5-гидроксилизин. Распознаваемые последовательности для ферментативного

присоединения углеводного звена к пептидным последовательностям с боковой цепью аспарагина представляют собой аспарагин-Х-серин и аспарагин-Х-треонин, причем Х — любая аминокислота, за исключением пролина. Таким образом, наличие любой из этих пептидных последовательностей в полипептиде создает потенциальный сайт гликозилирования.

Структуру гликозилирования можно изменять, например, путем удаления одного или более сайтов гликозилирования, находящихся в полипептиде, и/или добавлением одного или более сайтов гликозилирования, которые отсутствуют в полипептиде. Добавление сайтов гликозилирования к области Fc антитела удобно проводить путем изменения аминокислотной последовательности так, чтобы она содержала одну или более из описанных выше трипептидных последовательностей (для сайтов N-связанного гликозилирования). Иллюстративный вариант гликозилирования имеет замену аминокислотного остатка Asn 297 в тяжелой цепи. Изменение можно также проводить добавлением или заменой одного или более из остатков серина или треонина в последовательности исходного полипептида (для сайтов O-связанного гликозилирования). Кроме того, замена Asn 297 на Ala может приводить к удалению одного из сайтов гликозилирования.

В определенных вариантах осуществления человеческое специфическое антитело к IL12/23p40 настоящего изобретения экспрессируется в клетках, которые экспрессируют бета-(1,4)-N-ацетилглюкозаминилтрансферазу III (GnT III) так, что GnT III присоединяет GlcNAc к человеческому антителу к IL-12/23p40 (или к IL-23). Способы продукции антител таким путем представлены в WO/9954342, WO/03011878, патентной публикации 20030003097A1 и публикации Umana et al., Nature Biotechnology, 17: 176–180, Feb. 1999; причем каждая из них конкретно полностью включена в настоящий документ путем ссылки.

Человеческое антитело к IL12/23p40 также можно необязательно создавать путем иммунизации трансгенного животного (например, мыши, крысы, хомяка, примата (за исключением человека) и т. п.), способных продуцировать набор человеческих антител, как описано в настоящем документе и/или как известно специалистам в данной области. Клетки, которые продуцируют человеческие антитела к IL12/23p40, можно выделять из организма таких животных и иммортализовать с использованием приемлемых способов, таких как описаны в настоящем документе.

Трансгенных мышей, которые могут продуцировать набор человеческих антител, связывающихся с человеческими антигенами, можно создавать известными

способами (например, без ограничений, описанными в патентах США №: 5,770,428, 5,569,825, 5,545,806, 5,625,126, 5,625,825, 5,633,425, 5,661,016 и 5,789,650, выданных Lonberg et al.; Jakobovits et al. WO 98/50433, Jakobovits et al. WO 98/24893, Lonberg et al. WO 98/24884, Lonberg et al. WO 97/13852, Lonberg et al. WO 94/25585, Kucherlapate et al. WO 96/34096, Kucherlapate et al. EP 0463 151 B1, Kucherlapate et al. EP 0710 719 A1, Surani et al. патент США № 5,545,807, Bruggemann et al. WO 90/04036, Bruggemann et al. EP 0438 474 B1, Lonberg et al. EP 0814 259 A2, Lonberg et al. GB 2 272 440 A, Lonberg et al. Nature 368: 856–859 (1994), Taylor et al., Int. Immunol. 6(4) 579–591 (1994), Green et al, Nature Genetics 7:13–21 (1994), Mendez et al., Nature Genetics 15:146–156 (1997), Taylor et al., Nucleic Acids Research 20(23):6287–6295 (1992), Tuailon et al., Proc Natl Acad Sci USA 90(8):3720–3724 (1993), Lonberg et al., Int Rev Immunol 13(1):65–93 (1995), и Fishwald et al., Nat Biotechnol 14(7):845–851 (1996), причем каждый из них полностью включен в настоящий документ путем ссылки). По существу эти мыши имеют по меньшей мере одну содержащую трансген ДНК из по меньшей мере одного локуса человеческого иммуноглобулина, который функционально перестроен или который можно подвергать функциональной перестройке. Эндогенный локус иммуноглобулина у таких мышей можно разрушать или делетировать, чтобы лишить животное способности продуцировать антитела, кодируемые эндогенными генами.

Скрининг антител на специфичность связывания со сходными белками или фрагментами удобно проводить с использованием библиотек пептидного дисплея. Данный способ включает скрининг больших наборов пептидов для выявления отдельных пептидов, имеющих требуемую функцию или структуру. Скрининг антител в библиотеках пептидного дисплея хорошо известен специалистам в данной области. Длина отображаемых пептидных последовательностей может составлять от 3 до 5000 или более аминокислот, зачастую длина составляет 5–100 аминокислот и часто длина составляет от около 8 до 25 аминокислот. В дополнение к способам получения пептидных библиотек прямым химическим синтезом было описано несколько способов с рекомбинантными ДНК. Один из таких способов предусматривает отображение пептидной последовательности на поверхности бактериофага или клетки. Каждый бактериофаг или клетка содержит нуклеотидную последовательность, кодирующую конкретную отображаемую пептидную последовательность. Такие способы описаны в патентных публикациях РСТ № 91/17271, 91/18980, 91/19818 и 93/08278.

Другие системы для создания пептидных библиотек имеют аспекты как способов химического синтеза *in vitro*, так и рекомбинантных способов. См. патентные

публикации PCT № 92/05258, 92/14843 и 96/19256. См. также патенты США № 5,658,754; и 5,643,768. В продаже имеются библиотеки пептидных дисплеев, векторы и наборы для скрининга таких производителей, как Invitrogen (Carlsbad, штат Калифорния, США) и Cambridge antibody Technologies (Cambridgeshire, Великобритания). См., например, патенты США № 4704692, 4939666, 4946778, 5260203, 5455030, 5518889, 5534621, 5656730, 5763733, 5767260, 5856456, выданные Enzon; 5223409, 5403484, 5571698, 5837500, выданные Duax, 5427908, 5580717, выданные Affymax; 5885793, выданный Cambridge antibody Technologies; 5750373, выданный Genentech, 5618920, 5595898, 5576195, 5698435, 5693493, 5698417, выданные Хома, Colligan, упомянутое; Ausubel, упомянутое; или Sambrook, упомянутое, причем каждый из указанных патентов и публикаций полностью включен в настоящий документ путем ссылки.

Антитела, применяемые в способе настоящего изобретения, можно также получать с помощью по меньшей мере одной нуклеиновой кислоты, кодирующей антитело к IL12/23p40, с получением трансгенных животных или млекопитающих, таких как козы, коровы, лошади, овцы, кролики и т. п., которые продуцируют такие антитела в своем молоке. Таких животных можно создавать с помощью известных способов. См., например, без ограничений, патенты США № 5,827,690; 5,849,992; 4,873,316; 5,849,992; 5,994,616; 5,565,362; 5,304,489 и т. п., причем каждый из них полностью включен в настоящий документ путем ссылки.

Антитела, применяемые в способе настоящего изобретения, дополнительно можно получать с использованием по меньшей мере одной нуклеиновой кислоты, кодирующей антитело к IL12/23p40, для создания трансгенных растений и культур клеток растений (например, без ограничения, табака и маиса), которые продуцируют такие антитела, их определенные участки или варианты в органах растений или полученных из них клеточных культурах. В качестве не имеющего ограничительного характера примера трансгенные листья табака, экспрессирующие рекомбинантные белки, успешно использовали для получения больших количеств рекомбинантных белков, например, с использованием индуцируемого промотора. См., например, Cramer et al., Curr. Top. Microbiol. Immunol. 240:95-118 (1999) и приведенные в настоящей публикации ссылки. Кроме того, трансгенный маис использовали для экспрессии белков млекопитающих на уровне промышленного производства, причем их биологическая активность была эквивалентна активности белков, которые продуцировали в других системах рекомбинации или очищали из природных

источников. См., например, Hood et al., *Adv. Эксп. Med. Biol.* 464: 127-147 (1999) и приведенные в настоящей публикации ссылки. Антитела, включая и фрагменты антител, такие как одноцепочечные антитела (scFv), также продуцировали в больших количествах из семян трансгенных растений, в том числе из семян табака и клубней картофеля. См., например, Conrad et al., *Plant Mol. Biol.* 38: 101-109 (1998) и приведенные в этой публикации ссылки. Таким образом, антитела настоящего изобретения можно также продуцировать с использованием трансгенных растений в соответствии с известными способами. См. также, например, Fischer et al., *Biotechnol. Appl. Biochem.* 30:99-108 (Oct., 1999), Ma et al., *Trends Biotechnol.* 13:522-7 (1995); Ma et al., *Plant Physiol.* 109:341-6 (1995); Whitelam et al., *Biochem. Soc. Trans.* 22:940-944 (1994); и приведенные в этих публикациях ссылки. Каждый из вышеуказанных источников полностью включен в настоящий документ путем ссылки.

Антитела, применяемые в способе изобретения, могут связываться с человеческим IL12/IL23p40 в широком интервале аффинности (KD). В предпочтительном варианте осуществления мАТ человека необязательно может связываться с человеческим IL12/IL23p40 с высокой аффинностью. К примеру, мАТ человека может связываться с человеческим IL12/23p40 с показателем KD, равным около 10^{-7} М или менее, например, без ограничений, $0,1-9,9$ (или в любом интервале, или с любым значением в нем) $\times 10^{-7}$, 10^{-8} , 10^{-9} , 10^{-10} , 10^{-11} , 10^{-12} , 10^{-13} или в любом интервале, или с любым значением в нем.

Аффинность или авидность антитела для антигена можно определять экспериментально любым приемлемым способом (см., например, Berzofsky, et al., "Antibody-Antigen Interactions", In *Fundamental Immunology*, Paul, W. E., Ed., Raven Press: New York, NY (1984); Kubly, Janis *Immunology*, W. H. Freeman and Company: New York, NY (1992); а также способами, описанными в настоящем документе). Измеренная аффинность конкретного взаимодействия антитело-антиген может изменяться в зависимости от измерения в разных условиях (например, концентрации солей, pH). Таким образом, измерения аффинности и других параметров связывания антигена (например, KD, K_a , K_d) предпочтительно выполнять в стандартизованных растворах антитела и антигена, и в стандартизованном буфере, таком как буфер, описанный в настоящем документе.

Векторы и клетки-хозяева

Настоящее изобретение также относится к векторам, которые включают выделенные молекулы нуклеиновых кислот, клеткам-хозяевам, которые получены

методами генной инженерии с рекомбинантными векторами, и к получению по меньшей мере одного антитела к ПЛ12/23р40 с помощью рекомбинантных методик, которые хорошо известны в данной области. См., например, Sambrook et al., упомянутое; Ausubel, et al., упомянутое; причем каждая публикация полностью включена в настоящий документ путем ссылки.

Полинуклеотиды можно необязательно соединять с вектором, содержащим селективный маркер для размножения в организме-хозяине. По существу плазмидный вектор вводят в осадок, такой как осадок фосфата кальция, или в комплекс с заряженным липидом. Если в качестве вектора используют вирус, его можно упаковывать *in vitro* с помощью приемлемой упаковочной клеточной линии и впоследствии вводить внутрь клеток-хозяев.

Вставку ДНК необходимо функционально связывать с пригодным промотором. Экспрессионные конструкции дополнительно содержат сайты для инициации и терминации транскрипции, а в транскрибируемой области — сайт связывания рибосомы для трансляции. Кодирующий участок зрелых транскриптов с экспрессией конструктами предпочтительно содержит иницирующий трансляцию в начале и терминирующий кодон (например, UAA, UGA или UAG), надлежащим образом расположенный в конце транслируемой мРНК, причем для экспрессии клеток млекопитающих или эукариот предпочтительны UAA и UAG.

Экспрессионные векторы предпочтительно, но необязательно включают по меньшей мере один селективный маркер. Такие маркеры включают, например, без ограничений, гены устойчивости к метотрексату (MTX), дигидрофолатредуктазе (DHFR, патенты США № 4,399,216; 4,634,665; 4,656,134; 4,956,288; 5,149,636; 5,179,017, ампициллину, неомицину (G418), микофеноловой кислоте или глутаминсинтетазе (GS) (патенты США № 5,122,464; 5,770,359; 5,827,739) для культуры эукариотических клеток и гены устойчивости к тетрациклину или ампициллину для культивирования в *E. coli* и других бактериях или прокариотах (вышеуказанные патенты полностью включены в настоящий документ путем ссылки). Пригодные культуральные среды и условия для вышеуказанных клеток-хозяев известны в данной области. Приемлемые векторы, разумеется, известны специалистам в данной области. Введение векторного конструкта в клетку-хозяина можно осуществлять путем трансфекции посредством фосфата кальция, DEAE-декстрана, катионных липидов, электропорации, трансдукции, инфекции или других известных

способов. Такие способы описаны в данной области, например, в Sambrook, упомянутое, главы 1–4 и 16–18; Ausubel, упомянутое, главы 1, 9, 13, 15, 16.

По меньшей мере одно антитело, применяемое в способе настоящего изобретения, можно экспрессировать в модифицированной форме, такой как гибридный белок, и оно может включать не только сигналы секреции, но также и дополнительные гетерологичные функциональные области. Например, к N-концу антитела можно добавлять область дополнительных аминокислот, особенно заряженные аминокислоты, для повышения стабильности и персистенции антитела в клетке-хозяине, а также в ходе очистки или в ходе последующих манипуляций и хранения. Кроме того, к антителу настоящего изобретения для упрощения очистки можно добавлять пептидные звенья. Такие области можно удалять перед получением антитела или по меньшей мере одного его фрагмента. Такие способы описаны в многочисленных стандартных лабораторных руководствах, например, Sambrook, упомянутое, главы 17.29–17.42 и 18.1–18.74; Ausubel, упомянутое, главы 16, 17 и 18.

Специалисты в данной области знают множество экспрессирующих систем, доступных для экспрессии нуклеиновой кислоты, кодирующей белок, применяемый в способе настоящего изобретения. В альтернативном варианте осуществления нуклеиновые кислоты можно экспрессировать в клетке-хозяине путем запуска (путем процедуры) в клетке-хозяине, которая содержит эндогенную ДНК, кодирующую антитело. Такие способы хорошо известны специалистам в данной области, например, описаны в патентах США № 5,580,734, 5,641,670, 5,733,746 и 5,733,761, полностью включенных в настоящий документ путем ссылки.

Примером клеточных культур, используемых для получения антител, их определенных участков или вариантов, являются клетки млекопитающих. Системы клеток млекопитающих часто используют в виде монослоев клеток, однако можно также использовать суспензии клеток млекопитающих или биореакторы. В данной области разработано несколько приемлемых линий клеток-хозяев, способных экспрессировать интактные гликозилированные белки, в частности линии клеток COS-1 (например, ATCC CRL 1650), COS-7 (например, ATCC CRL-1651), HEK293, ВНК21 (например, ATCC CRL-10), CHO (например, ATCC CRL 1610) и BSC-1 (например, ATCC CRL-26), клетки Cos-7, клетки CHO, клетки her G2, клетки P3X63Ag8.653, SP2/0-Ag14, 293, клетки HeLa и т. п., например, производства Американской коллекции типовых культур, г. Манассас, штат Вирджиния, США (www.atcc.org).

Предпочтительные клетки-хозяева включают клетки лимфоидного происхождения,

такие как миеломные и лимфомные клетки. Более предпочтительны клетки-хозяева P3X63Ag8.653 (каталожный номер ATCC CRL-1580) и клетки SP2/0-Ag14 (каталожный номер ATCC CRL-1851). В особенно предпочтительном варианте осуществления рекомбинантная клетка представляет собой клетку линий P3X63Ab8.653 или SP2/0-Ag14.

Экспрессионные векторы для этих клеток могут включать одну или более из следующих последовательностей для контроля экспрессии, таких как, без ограничений, точка начала репликации; промотор (например, поздние или ранние промоторы SV40, промотор CMV (патенты США № 5,168,062; 5,385,839), промотор HSV tk, промотор pgk (фосфоглицераткиназа), промотор EF-1-альфа (патент США № 5,266,491), по меньшей мере один промотор человеческого иммуноглобулина; энхансер и/или информационные сайты для процессинга, такие как сайты связывания рибосом, сайты сплайсинга РНК, сайты полиаденилирования (например, сайт присоединения поли-А большого Т-Аг SV40) и последовательности терминаторов транскрипции. См., например, Ausubel et al., упомянутое; Sambrook et al., упомянутое. Для продукции нуклеиновых кислот или белков настоящего изобретения используют и другие известные и/или поставляемые клетки, например, по каталогу «Американская коллекция типовых культур клеточных линий и гибридом» (www.atcc.org), либо из других известных или коммерческих источников.

В случае использования эукариотических клеток-хозяев в вектор, как правило, встраивают последовательности полиаденилирования или терминации транскрипции. Например, в качестве последовательности терминации можно использовать последовательность полиаденилирования из гена бычьего гормона роста. Возможно также добавление последовательностей для точного сплайсинга транскрипта. Примером последовательности сплайсинга служит интрон VP1 из SV40 (Sprague, et al., J. Virol. 45:773–781 (1983)). Кроме того, в вектор можно добавлять последовательности генов для контроля репликации в клетке-хозяине, известные в данной области.

Очистка антитела

Антитело к IL12/23p40 можно выделять из рекомбинантных клеточных культур и очищать хорошо известными способами, включая, без ограничений, очистку с помощью белка А, осаждение сульфатом аммония или этанолом, экстракцию кислотой, анионо- или катионообменную хроматографию, хроматографию на фосфоцеллюлозе, гидрофобную хроматографию, аффинную хроматографию, хроматографию на гидроксипатите и хроматографию на лектине. Для очистки можно также использовать

высокоэффективную жидкостную хроматографию (ВЭЖХ). См., например, Colligan, Current Protocols in Immunology, или Current Protocols in Protein Science, John Wiley & Sons, NY, NY, (1997–2001), например, главы 1, 4, 6, 8, 9, 10, причем каждая полностью включена в настоящий документ путем ссылки.

5 Антитела, применяемые в способе настоящего изобретения, включают очищенные естественным путем продукты, продукты химического синтеза и продукты, получаемые при помощи рекомбинантных технологий из эукариотических клеток-хозяев, включая, например, клетки дрожжей, высших растений, насекомых и млекопитающих. В зависимости от хозяина, используемого в способе рекомбинантной
10 продукции, антитело может быть гликозилированным или может быть негликозилированным, причем гликозилированное антитело является предпочтительным. Такие способы описаны в многочисленных стандартных лабораторных руководствах, например Sambrook, упомянутое, разделы 17.37–17.42; Ausubel, упомянутое, главы 10, 12, 13, 16, 18 и 20, Colligan, Protein Science, упомянутое,
15 главы 12–14, причем все публикации полностью включены в настоящий документ путем ссылки.

Антитела к IL12/23p40

Антитело к IL12/23p40 согласно настоящему изобретению включает любой белок или пептид, содержащий молекулу, которая содержит по меньшей мере участок
20 молекулы иммуноглобулина, такой как, без ограничений, по меньшей мере один связывающий лиганд участок (LBP), такой как, без ограничений, определяющая комплементарность область (CDR) тяжелой или легкой цепи, или ее связывающий лиганд участок, вариабельную область тяжелой или легкой цепи, каркасную область (например, FR1, FR2, FR3, FR4 или их фрагмент, дополнительно необязательно
25 содержащие по меньшей мере одну замену, вставку или делецию), константную область тяжелой или легкой цепи (например, содержащую по меньшей мере один СН1, шарнир 1, шарнир 2, шарнир 3, шарнир 4, СН2 или СН3, или их фрагмент, дополнительно необязательно содержащие по меньшей мере одну замену, вставку или делецию), или любой их участок, который можно встроить в антитело. Антитело может
30 включать антитела любого млекопитающего, такого как, без ограничений, человек, мышь, кролик, крыса, грызун, примат, или любую их комбинацию и т. п. или может быть получено из них.

Предпочтительно человеческое антитело или связывающий антиген фрагмент связывается с человеческим IL12/23p40 и, таким образом, частично или по существу

нейтрализует по меньшей мере один вид биологической активности этого белка. Антитело, или его определенный участок, или вариант, которое частично или предпочтительно по существу нейтрализует по меньшей мере одну биологическую активность по меньшей мере одного белка или фрагмента IL12/23p40, может связывать белок или фрагмент и, таким образом, ингибировать активности, опосредуемые связыванием IL12/23p40 с рецептором к IL-12 и/или IL-23, или с другими зависимыми от IL12/23p40 или IL-23 или опосредуемыми им механизмами. В контексте настоящего документа термин «нейтрализующее антитело» относится к антителу, которое может ингибировать зависимость от IL12/23p40 или от IL-23 активность на около 20–120%, предпочтительно по меньшей мере на около 10, 20, 30, 40, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 100% или более, в зависимости от метода анализа. Способность антитела к IL12/23p40 или IL-23 ингибировать зависимость от IL12/23p40 или IL-23 активность предпочтительно оценивают с помощью по меньшей мере одного приемлемого метода анализа белка IL12/23p40 или IL-23 или его рецептора, как описано в настоящем документе и/или как известно специалистам в данной области. Человеческое антитело может представлять собой антитело любого класса (IgG, IgA, IgM, IgE, IgD и т. п.) или изотипа и может содержать легкую цепь каппа или лямбда. В одном варианте осуществления человеческое антитело содержит тяжелую цепь или определенный фрагмент IgG, например по меньшей мере один из изотипов IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4 (например, $\gamma 1$, $\gamma 2$, $\gamma 3$, $\gamma 4$). Антитела этого типа можно получать с использованием трансгенной мыши или другого трансгенного не относящегося к человеку млекопитающего, содержащего трансгены по меньшей мере одной человеческой легкой цепи (например, IgG, IgA и IgM), как описано в настоящем документе и/или как известно специалистам в данной области техники. В другом варианте осуществления человеческое антитело содержит тяжелую цепь IgG1 и легкую цепь IgG1.

Антитело связывает по меньшей мере один определенный эпитоп, специфичный к по меньшей мере одному белку IL12/23p40, его субъединице, фрагменту, участку или любой их комбинации. По меньшей мере один эпитоп может содержать по меньшей мере одну область связывания с антителом, которая содержит по меньшей мере один участок белка, причем данный эпитоп предпочтительно содержит по меньшей мере один внеклеточный, растворимый, гидрофильный, внешний или цитоплазматический участок белка.

По существу человеческое антитело или антигенсвязывающий фрагмент содержит антигенсвязывающую область, которая содержит по меньшей мере одну определяющую комплементарность область (CDR1, CDR2 и CDR3) человека или вариант по меньшей мере одной варибельной области тяжелой цепи и по меньшей мере одной определяющей комплементарности области человека (CDR1, CDR2 и CDR3) или вариант по меньшей мере одной варибельной области легкой цепи. Последовательности CDR можно получать из последовательностей зародышевой линии человека, или они могут точно соответствовать последовательностям зародышевой линии. Например, можно использовать CDR из синтетической библиотеки, полученной из исходных не относящихся к человеку CDR. Эти CDR могут быть образованы путем встраивания консервативных замен из исходной нечеловеческой последовательности. В другом конкретном варианте осуществления антитело или антигенсвязывающий участок или вариант может иметь антигенсвязывающую область, которая содержит по меньшей мере участок по меньшей мере одной CDR легкой цепи (т. е. CDR1, CDR2 и/или CDR3), имеющую аминокислотную последовательность, соответствующую CDR 1, 2 и/или 3.

Такие антитела можно получать путем химического связывания различных участков (например, CDR, каркасной области) антитела с помощью стандартных способов получения и экспрессии молекулы (т. е. одной или более) нуклеиновой кислоты, которая кодирует антитело, с помощью стандартных способов технологии рекомбинантных ДНК или с помощью другого приемлемого способа.

В одном варианте осуществления антитело к IL12/23p40, используемое в изобретении, представляет собой моноклональное антитело, предпочтительно человеческое mAb, содержащее определяющие комплементарности области тяжелой цепи (CDR) HCDR1, HCDR2 и HCDR3 SEQ ID NO: 1, 2 и 3 соответственно; и CDR легкой цепи LCDR1, LCDR2 и LCDR3 SEQ ID NO: 4, 5 и 6 соответственно.

Специфичное антитело к IL12/23p40 может содержать по меньшей мере одну из варибельных областей тяжелой или легкой цепи, имеющую определенную аминокислотную последовательность. Например, в предпочтительном варианте осуществления антитело к IL12/23p40 или IL-23 содержит антитело к IL12/23p40, имеющее варибельную область тяжелой цепи, аминокислотная последовательность которой по меньшей мере на 85%, предпочтительно по меньшей мере на 90%, более предпочтительно по меньшей мере на 95% и наиболее предпочтительно на 100% идентична последовательности SEQ ID NO:7, и варибельную область легкой цепи,

содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, предпочтительно по меньшей мере на 90%, более предпочтительно по меньшей мере на 95% и наиболее предпочтительно на 100% идентична последовательности SEQ ID NO:8.

5 Специфическое антитело к IL12/23p40 может также содержать по меньшей мере одну из тяжелой или легкой цепи, имеющей определенную аминокислотную последовательность. В другом варианте осуществления антитело к IL12/23p40 содержит тяжелую цепь, аминокислотная последовательность которой по меньшей мере на 85%, предпочтительно по меньшей мере на 90%, более предпочтительно по меньшей мере на 95%, и наиболее предпочтительно на 100% идентична последовательности SEQ ID NO:10, и вариабельную область легкой цепи, аминокислотная последовательность которой по меньшей мере на 85%, предпочтительно по меньшей мере на 90%, более предпочтительно по меньшей мере на 95% и наиболее предпочтительно на 100% идентична последовательности SEQ ID NO:11.

15 Предпочтительно антитело к IL12/23p40 представляет собой устекинумаб (Stelara®), содержащий тяжелую цепь, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 10, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 11. Другие примеры антител к IL12/23p40, используемых в изобретении, включают, без ограничений, бриакинумаб (ABT-874, Abbott) и другие антитела, описанные в патентах США № 6,914,128, 7,247,711, 7700739, полное содержание которых включено в настоящий документ путем ссылки).

20 Изобретение также относится к антителам, антигенсвязывающим фрагментам, цепям иммуноглобулина и областям CDR, содержащим аминокислоты в последовательности, по существу совпадающей с аминокислотной последовательностью антитела, описанной в настоящем документе. Такие антитела или антигенсвязывающие фрагменты и антитела, содержащие такие цепи или области CDR, могут предпочтительно связываться с человеческим IL12/23p40 или IL-23 с высокой аффинностью (например, с KD около 10^{-9} М или менее). Аминокислотные последовательности, по существу совпадающие с последовательностями, описанными в настоящем документе, включают последовательности, содержащие консервативные аминокислотные замены, а также делеции и/или вставки аминокислот. Консервативной аминокислотной заменой называется замена первой аминокислоты на вторую аминокислоту, физические и/или химические свойства которой (например, заряд,

структура, полярность, гидрофобность/гидрофильность) сходны со свойствами первой аминокислоты. Консервативные замены включают, без ограничений, замену одной аминокислоты на другую в пределах следующих групп: лизин (K), аргинин (R) и гистидин (H); аспарат (D) и глутамат (E); аспарагин (N), глутамин (Q), серин (S), треонин (T), тирозин (Y), K, R, H, D и E; аланин (A), валин (V), лейцин (L), изолейцин (I), пролин (P), фенилаланин (F), триптофан (W), метионин (M), цистеин (C) и глицин (G); F, W и Y; C, S и T.

Антитела, которые связываются с человеческим IL-12/IL-23p40 или IL-23 и которые содержат определенную вариабельную область тяжелой или легкой цепи, можно получать приемлемыми способами, такими как фаговый дисплей (Katsube, Y., et al., *Int J Mol. Med.*, 1(5): 863–868 (1998)), или способами, в которых используют трансгенных животных, известными специалистам в данной области и/или описанными в настоящем документе. Например, трансгенную мышь, содержащую функционально перестроенный трансген тяжелой цепи человеческого иммуноглобулина и трансген, содержащий ДНК из локуса легкой цепи человеческого иммуноглобулина, который можно подвергать функциональной перестройке, можно иммунизировать человеческим IL12/23p40 или IL-23 или его фрагментом для индуцирования продукции антител. Если требуется, можно выделять клетки, продуцирующие антитела, и можно получать гибридомы или другие иммортализованные клетки, продуцирующие антитела, как описано в настоящем документе и/или известно специалистам в данной области. В альтернативном варианте осуществления антитело, определенный участок или вариант можно экспрессировать в приемлемой клетке-хозяине с помощью кодирующей нуклеиновой кислоты или ее участка.

Антитело к IL12/23p40, применяемое в способе настоящего изобретения, может включать одну или более аминокислотных замен, делеций или добавлений вследствие естественных мутаций либо действий человека, описанных в настоящем документе.

Число аминокислотных замен, которое может произвести квалифицированный специалист, зависит от многих факторов, включая описанные выше. Говоря по существу, количество аминокислотных замен, вставок или делеций для любого данного антитела к IL12/23p40, фрагмента или варианта будет составлять не более 40, 30, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2, 1, например 1–30, или любой интервал, или значение в нем, как указано в настоящем документе.

Специалисты в данной области могут идентифицировать аминокислоты в специфичном антителе к IL12/23p40, которые необходимы для его функции,

известными способами, такими как сайт-направленный мутагенез или сканирующий аланином мутагенез (например, Ausubel, см. выше, главы 8, 15; Cunningham and Wells, Science 244:1081–1085 (1989)). Последняя процедура предполагает добавление точечных мутаций аланина в каждом остатке в молекуле. Полученные мутантные молекулы впоследствии испытывают на биологическую активность, такую как, без 5 ограничений, по меньшей мере одну активность по нейтрализации IL12/23p40 или IL-23. Критичные для связывания с антителом сайты можно также идентифицировать путем анализа структуры, например путем кристаллизации, ядерного магнитного резонанса или фотоаффинного мечения (Smith, et al., J. Mol. Biol. 224:899–904 (1992) и 10 de Vos, et al., Science 255:306–312 (1992)).

Антитела к IL12/23p40 могут включать, без ограничений, по меньшей мере один участок, последовательность или комбинацию, выбранные из от 5 до всех последовательных аминокислот из по меньшей мере одной из последовательностей SEQ ID NO: 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 10 или 11.

15 Антитела к IL12/23p40 или определенные участки или варианты могут включать без ограничений по меньшей мере один участок, последовательность или комбинацию, выбранные из по меньшей мере 3–5 последовательных аминокислот указанных выше SEQ ID NO; 5–17 последовательных аминокислот с указанными выше SEQ ID NO, 5–10 последовательных аминокислот с указанными выше SEQ ID NO, 5–11 20 последовательных аминокислот с указанными выше SEQ ID NO, 5–7 последовательных аминокислот с указанными выше SEQ ID NO; 5–9 последовательных аминокислот с указанными выше SEQ ID NO.

Антитело к IL12/23p40 может дополнительно необязательно содержать полипептид из по меньшей мере одной из 70–100% из 5, 17, 10, 11, 7, 9, 119, 108, 449 25 или 214 последовательных аминокислот с указанными выше SEQ ID NO. В одном варианте осуществления аминокислотная последовательность цепи иммуноглобулина или ее участок (например, вариабельная область, CDR) имеет идентичность около 70–100% (например, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 100 или любой интервал, или значение в нем) с 30 аминокислотной последовательностью соответствующей цепи по меньшей мере одной из последовательностей SEQ ID NO, указанных выше. Например, аминокислотную последовательность вариабельной области легкой цепи можно сравнивать с последовательностью с указанными выше SEQ ID NO, или аминокислотную последовательность CDR3 тяжелой цепи можно сравнивать с указанными выше SEQ ID

NO. 70–100% идентичности аминокислот (например, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 100 или любой интервал, или значение в нем) предпочтительно определяют с помощью приемлемого компьютерного алгоритма, известного специалистам в данной области.

«Идентичностью», как известно специалистам в данной области, называется соотношение между двумя или более полипептидными последовательностями или двумя или более полинуклеотидными последовательностями, определяемое путем сравнения этих последовательностей. В данной области «идентичность» также означает степень родства последовательностей между полипептидными или полинуклеотидными последовательностями, как определено по сопоставлению цепочек таких последовательностей. «Идентичность» и «подобие» можно легко подсчитать известными способами, включая, без ограничений, описанные в *Computational Molecular Biology*, Lesk, A. M., ed., Oxford University Press, New York, 1988; *Biocomputing: Informatics and Genome Projects*, Smith, D. W., ed., Academic Press, New York, 1993; *Computer Analysis of Sequence Data, Part I*, Griffin, A. M., and Griffin, H. G., eds., Humana Press, New Jersey, 1994; *Sequence Analysis in Molecular Biology*, von Heinje, G., Academic Press, 1987; и *Sequence Analysis Primer*, Gribskov, M. and Devereux, J., eds., M Stockton Press, New York, 1991; и Carillo, H., and Lipman, D., *Siam J. Applied Math.*, 48:1073 (1988). Кроме того, выраженную в процентах идентичность можно получать на основании сопоставлений последовательностей аминокислот и нуклеотидов, сгенерированных с заданными по умолчанию настройками компонента AlignX в пакете программ Vector NTI Suite 8.0 (Informax, г. Фредерик, штат Мэриленд, США).

Предпочтительные способы определения идентичности предназначены для создания наилучшего соответствия между тестируемыми последовательностями. Способы определения идентичности и подобия систематизированы в общедоступных компьютерных программах. Предпочтительные компьютерные программные способы определения идентичности и подобия между двумя последовательностями включают, без ограничений, пакет программ GCG (Devereux, J., et al., *Nucleic Acids Research* 12(1): 387 (1984)), BLASTP, BLASTN и FASTA (Atschul, S. F. et al., *J. Molec. Biol.* 215:403-410 (1990)). Программа BLAST X общедоступна от NCBI и других источников (BLAST Manual, Altschul, S., et al., NCBI/NIH Bethesda, Md. 20894; Altschul, S., et al., *J. Mol. Biol.* 215:403-410 (1990)). Для определения идентичности можно также использовать хорошо известный алгоритм Смита — Ватермана.

Примеры последовательностей переменных областей тяжелой и легкой цепей и их участков представлены в вышеуказанных SEQ ID NO. Антитела настоящего

изобретения или их конкретные варианты могут содержать любое количество последовательных аминокислотных остатков из антителя настоящего изобретения, причем это число выбрано из группы целых чисел в интервале 10–100% от числа последовательных остатков в антители к П12/23р40. Длина данной

5 подпоследовательности последовательных аминокислот необязательно составляет по меньшей мере около 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 110, 120, 130, 140, 150, 160, 170, 180, 190, 200, 210, 220, 230, 240, 250 или более аминокислот, или любой интервал, или значение в нем. Количество таких подпоследовательностей может дополнительно представлять собой любое целое число, выбранное из группы, состоящей из 1–20,
10 например по меньшей мере 2, 3, 4 или 5.

Согласно определению специалистов в данной области, настоящее изобретение включает по меньшей мере одно биологически активное антители настоящего изобретения. Биологически активные антители обладают удельной активностью, составляющей по меньшей мере 20%, 30% или 40%, и предпочтительно по меньшей
15 мере 50%, 60% или 70%, и наиболее предпочтительно по меньшей мере 80%, 90% или 95–100% или более (включая, без ограничений, вплоть до 10-кратного увеличения удельной активности) от активности нативного (несинтетического), эндогенного или родственного ему и известного антителя. Способы качественного и количественного анализа ферментативной активности и субстратной специфичности хорошо известны
20 специалистам в данной области.

В другом аспекте изобретение относится к человеческим антителям и антигенсвязывающим фрагментам, как описано в настоящем документе, которые модифицируют путем ковалентного присоединения органической функциональной группы. Такая модификация позволяет создать антители или антигенсвязывающий
25 фрагмент с улучшенными фармакокинетическими свойствами (например, увеличенным периодом полужизни *in vivo* в сыворотке). В качестве органической функциональной группы можно использовать линейную или разветвленную гидрофильную полимерную группу, группу жирной кислоты или группу сложного эфира жирной кислоты. В конкретных вариантах осуществления гидрофильная полимерная группа может иметь
30 молекулярную массу от около 800 до около 120 000 дальтон и представлять собой полиалкангликоль (например, полиэтиленгликоль (PEG), полипропиленгликоль (PPG)), углеводный полимер, аминокислотный полимер или поливинилпиролон, а группа жирной кислоты или группа сложного эфира жирной кислоты может содержать от около восьми до около сорока атомов углерода.

Модифицированные антитела и антигенсвязывающие фрагменты могут содержать одну или более органических звеньев, которые имеют прямую или непрямую ковалентную связь с антителом. Каждая органическая функциональная группа, связанная с антителом или с антигенсвязывающим фрагментом изобретения, может независимо представлять собой гидрофильную полимерную группу, группу жирной кислоты или группу сложного эфира жирной кислоты. В контексте настоящего документа термин «жирная кислота» охватывает одноосновные и двухосновные карбоновые кислоты. В контексте настоящего документа термин «гидрофильная полимерная группа» обозначает органический полимер, обладающий лучшей растворимостью в воде, чем в октане. Например, полилизин лучше растворяется в воде, чем в октане. Таким образом, антитело, модифицированное путем ковалентного присоединения полилизина, включено в изобретение. Гидрофильные полимеры, приемлемые для модификации антител изобретения, могут быть линейными или разветвленными, и включают, например, полиалкангликоли (например, PEG, монометоксиполиэтиленгликоль (mPEG), PPG и т. п.), углеводы (например, декстран, целлюлозу, олигосахариды, полисахариды и т. п.), полимеры гидрофильных аминокислот (например, полилизин, полиаргинин, полиаспартат и т. п.), оксиды полиалканов (например, полиэтиленоксид, полипропиленоксид и т. п.) и поливинилпирролидон. Гидрофильный полимер, модифицирующий антитело изобретения, предпочтительно имеет молекулярную массу от около 800 до около 150 000 дальтон, как отдельный фрагмент молекулы. Например, может быть использован PEG5000 и PEG20 000, где нижний индекс означает среднюю молекулярную массу полимера в дальтонах. Гидрофильная полимерная группа может иметь от одного до около шести заместителей — групп алкила, жирной кислоты или сложного эфира жирной кислоты. Гидрофильные полимеры с замещающей группой жирной кислоты или сложного эфира жирной кислоты можно получать с применением приемлемых способов. Например, полимер, содержащий аминокруппу, может быть связан с карбоксилатом жирной кислоты или сложного эфира жирной кислоты, а активированный карбоксилат (например, активированный N,N-карбонилдиимидазолом) на жирной кислоте или сложном эфире жирной кислоты может быть связан с гидроксильной группой полимера.

Жирные кислоты и сложные эфиры жирных кислот, приемлемые для модификации антител изобретения, могут быть насыщенными или могут содержать одну или более ненасыщенных связей. Жирные кислоты, приемлемые для

модификации антител изобретения, включают, например, н-додеcanoат (C12, лаурат), н-тетрадеcanoат (C14, миристант), н-октадеcanoат (C18, стеарат), н-эйкозаноат (C20, арахидат), н-докозаноат (C22, бегенат), н-триаконтаноат (C30), н-тетракоктаноат (C40), цис- \square 9-октадеcanoат (C18, олеат), полностью цис- \square 5,8,11,14-эйкозатетраеноат (C20, арахидонат), октандикарбоновую кислоту, тетрадекандикарбоновую кислоту, октадекандикарбоновую кислоту, докозандикарбоновую кислоту и т. п. Приемлемые сложные эфиры жирных кислот включают сложные моноэфиры дикарбоновых кислот, содержащие линейную или разветвленную группу низшего алкила. Группа низшего алкила может содержать от одного до около двенадцати, предпочтительно от одного до около шести атомов углерода.

Модифицированные человеческие антитела и антигенсвязывающие фрагменты можно получать с помощью приемлемого способа, например путем реакции с одним или более модифицирующими агентами. В контексте настоящего документа термин «модифицирующий агент» относится к приемлемой органической группе (например, гидрофильному полимеру, жирной кислоте, сложному эфиру жирной кислоты), которая содержит активирующую группу. «Активирующая группа» означает химический фрагмент или функциональную группу, которые при подходящих условиях могут вступать в реакцию со второй химической группой и, таким образом, образовывать ковалентную связь между модифицирующим агентом и второй химической группой. Например, к реагирующим с амином активирующим группам относятся электрофильные группы, такие как тозилат, мезилат, галоген (хлор, бром, фтор, йод), сложные эфиры N-гидроксисукцинимидила (NHS) и т. п. Активирующие группы, способные реагировать с тиолами, включают, например, малеимид, йодацетил, акрилолил, дисульфиды пиридила, тиол 5-тиол-2-нитробензойной кислоты (TNB-тиол) и т. п. Функциональная группа альдегида может быть связана с амин- или гидразид-содержащими молекулами, а группа азида может реагировать с трехвалентной фосфорной группой с образованием фосфорамидатных или фосфоримидных связей. Приемлемые способы введения активирующих групп в молекулы известны специалистам в данной области (см., например, Hermanson, G. T., *Bioconjugate Techniques*, Academic Press: San Diego, CA (1996)). Активирующая группа может быть связана с органической группой (например, гидрофильным полимером, жирной кислотой, сложным эфиром жирной кислоты) прямо или через линкерную функциональную группу, например двухвалентную группу C1–C12, в которой один или более атомов углерода могут быть замещены гетероатомом, таким как кислород,

азот или сера. Приемлемые линкерные фрагменты включают, например, тетраэтиленгликоль, $-(CH_2)_3-$, $-NH-(CH_2)_6-NH-$, $-(CH_2)_2-NH-$ и $-CH_2-O-CH_2-CH_2-O-CH_2-CH_2-O-CH-NH-$. Модифицирующие агенты, которые содержат линкерную функциональную группу, можно получать, например, путем реакции моно-Вос-алкилдиамина (например, моно-Вос-этилендиамина, моно-Вос-диаминогексана) с жирной кислотой в присутствии 1-этил-3-(3-диметиламинопропил)-карбодиимида (EDC) с образованием амидной связи между свободным амином и карбоксилатом жирной кислоты. Защитную группу Вос можно удалять из продукта путем обработки трифторуксусной кислотой (TFA) с открытием первичного амина, который может быть связан с другим карбоксилатом, как описано выше, или он может вступать в реакцию с малеиновым ангидридом с замыканием полученного продукта в цикл и получением активированного малеимидного производного жирной кислоты (см., например, Thompson, et al., WO 92/16221, содержание которых полностью включено в настоящий документ путем ссылки).

Модифицированные антитела можно получать путем реакции человеческого антитела или антигенсвязывающего фрагмента с модифицирующим агентом. Например, органические функциональные группы могут быть связаны с антителом неспецифично к сайту с помощью реагирующего с амином модифицирующего агента, например сложного эфира NHS и PEG. Модифицированные человеческие антитела или антигенсвязывающие фрагменты можно также получать путем восстановления дисульфидных связей (например, внутрицепочечных дисульфидных связей) антитела или антигенсвязывающего фрагмента. Восстановленное антитело или антигенсвязывающий фрагмент может впоследствии взаимодействовать с реагирующим с тиолом модифицирующим агентом с получением модифицированного антитела изобретения. Модифицированные человеческие антитела и антигенсвязывающие фрагменты, содержащие органическую функциональную группу, которая связана с определенными участками антитела настоящего изобретения, можно получать с помощью приемлемых способов, таких как обратный протеолиз (Fisch et al., *Bioconjugate Chem.*, 3:147–153 (1992); Werlen et al., *Bioconjugate Chem.*, 5:411–417 (1994); Kumaran et al., *Protein Sci.* 6(10):2233-2241 (1997); Itoh et al., *Bioorg. Chem.*, 24(1): 59-68 (1996); Capellas et al., *Biotechnol. Bioeng.*, 56(4):456–463 (1997)), а также способов, описанных в Hermanson, G. T., *Bioconjugate Techniques*, Academic Press: San Diego, CA (1996).

В способе по настоящему изобретению также применяют композицию антител к IL12/23p40, содержащую по меньшей мере одно, по меньшей мере два, по меньшей мере три, по меньшей мере четыре, по меньшей мере пять, по меньшей мере шесть или более антител к IL12/23p40, как описано в настоящем документе и/или известно специалистам в данной области, представленных в виде не встречающейся в природе композиции, смеси или формы. Такие композиции представляют собой композиции не природного происхождения, содержащие по меньшей мере один или два полноразмерных, имеющих C- и/или N-концевую делецию варианта, домена, фрагмента или определенных варианта аминокислотной последовательности антитела к IL12/23p40, выбранной из группы, состоящей из 70–100% последовательных аминокислот с указанными выше SEQ ID NO, или определенных их фрагментов, доменов или вариантов. Предпочтительные композиции антител к IL12/23p40 включают по меньшей мере один или два полноразмерных фрагмента, домена или варианта, таких как по меньшей мере один содержащий CDR или LBP участок последовательности антитела к IL12/23p40, описанного в настоящем документе, например 70–100% последовательностей с указанными выше SEQ ID NO, или их определенных фрагментов, доменов или вариантов. Предпочтительные композиции дополнительно содержат, например, 40–99% по меньшей мере одной из 70–100% последовательностей с указанными выше SEQ ID NO и т. д. или их определенных фрагментов, доменов или вариантов. Процентные доли такой композиции определяют по массе, объему, концентрации, молярности или моляльности в жидких или сухих растворах, смесях, суспензиях, эмульсиях, частицах, порошке или коллоидах, как известно специалистам в данной области или описано в настоящем документе.

Композиции антител, содержащие дополнительные терапевтически активные вещества

Композиции антител, применяемые в способе изобретения, могут необязательно дополнительно содержать эффективное количество по меньшей мере одного соединения или белка, выбранного из по меньшей мере одного лекарственного средства против инфекции, лекарственного средства для сердечно-сосудистой системы (СС), лекарственного средства для центральной нервной системы (ЦНС), лекарственного средства для автономной нервной системы (АНС), лекарственного средства для дыхательного тракта, лекарственного средства для желудочно-кишечного тракта (ЖКТ), гормонального лекарственного средства, лекарственного средства для баланса жидкости или электролитов, гематологического лекарственного средства,

противоопухолевого лекарственного средства, иммуномодулирующего лекарственного средства, лекарственного средства для глаз, ушей или носа, лекарственного средства для местного применения, питательного лекарственного средства и т. п. Такие лекарственные средства хорошо известны специалистам в данной области, включая составы, показания, дозы и введение для каждого представленного в настоящем описании лекарственного средства (см., например, Nursing 2001 Handbook of Drugs, 21st edition, Springhouse Corp., Springhouse, PA, 2001; Health Professional's Drug Guide 2001, ed., Shannon, Wilson, Stang, Prentice-Hall, Inc, Upper Saddle River, NJ; Pharmacotherapy Handbook, Wells et al., ed., Appleton & Lange, Stamford, CT, причем каждая из публикаций полностью включена в настоящий документ путем ссылки).

Примером лекарственных средств, которые можно комбинировать с антителами для способа настоящего изобретения, является противоионное лекарственное средство, которое может представлять собой по меньшей мере одно средство, выбранное из амебицидов, или по меньшей мере одного из противопротозойных, противогельминтных, противогрибковых, противомаларийных, противотуберкулезных средств, или по меньшей мере одного из противолепрозных средств, аминогликозидов, пенициллинов, цефалоспоринов, тетрациклинов, сульфонамидов, фторхинолонов, противовирусных, макролидных противоионных средств и прочих противоионных средств. Гормональное лекарственное средство может быть по меньшей мере одним, выбранным из кортикостероидов, андрогенов, или по меньшей мере одним из анаболических стероидов, эстрогенов, или по меньшей мере одним прогестинном, гонадотропином, антидиабетическим лекарственным средством, или по меньшей мере одним из глюкагона, тиреоидного гормона, антагониста тиреоидного гормона, гормона гипофиза и подобного паратгормону лекарственного средства. По меньшей мере один цефалоспорин может представлять собой по меньшей мере один, выбранный из цефаклора, цефадроксила, цефазолина натрия, цефдинира, гидрохлорида цефепима, цефиксима, цефметазола натрия, цефоницида натрия, цефоперазона натрия, цефотаксима натрия, цефотетана динатрия, цефокситина натрия, цефподоксима проксетила, цефпрозила, цефтазидима, цефтибутена, цефтизоксима натрия, цефтриаксона натрия, цефуроксима аксетила, цефуроксима натрия, гидрохлорида цефалексина, моногидрата цефалексина, цефрадина и лоракарбефа.

По меньшей мере один кортикостероид может представлять собой по меньшей мере один, выбранный из бетаметазона, ацетата бетаметазона или фосфата бетаметазона натрия, фосфата бетаметазона натрия, кортизона ацетата, дексаметазона,

ацетата дексаметазона, фосфата дексаметазона натрия, ацетата флудрокортизона, гидрокортизона, ацетата гидрокортизона, ципионата гидрокортизона, фосфата гидрокортизона натрия, сукцината гидрокортизона натрия, метилпреднизолона, ацетата метилпреднизолона, сукцината метилпреднизолона натрия, преднизолона, ацетата преднизолона, преднизолона фосфата натрия, тебутата преднизолона, преднизона, триамцинолона, ацетонида триамцинолона и диацетата триамцинолона. По меньшей мере один андроген или анаболический стероид может представлять собой по меньшей мере один, выбранный из даназола, флюоксиместерона, метилтестостерона, деканоата нандролона, фенпропионата нандролона, тестостерона, ципионата тестостерона, энантата тестостерона, пропионата тестостерона и тестостерона в трансдермальной системе.

Данный по меньшей мере один иммунодепрессант может быть по меньшей мере одним, выбранным из азатиоприна, базиликсимаба, циклоспорина, даклизумаба, иммуноглобулина лимфоцитов, муромонаба CD3, микофенолята мофетила, гидрохлорида микофенолята мофетила, сиролимуса, 6-меркаптопурина, метотрексата, мизорибина и такролимуса.

По меньшей мере одно противoinфекционное лекарственное средство местного действия может представлять собой по меньшей мере одно средство, выбранное из ацикловира, амфотерицина В, крема с азелаиновой кислотой, бацитрацина, бутконазола нитрата, фосфата клиндамицина, клотримазола, нитрата эконазола, эритромицина, сульфата гентамицина, кетокконазола, ацетата мафенида, метронидазола (местного действия), нитрата миконазола, мупироцина, гидрохлорида нафтифина, сульфата неомицина, нитрофуразона, нистатина, сульфадиазина серебра, гидрохлорида тербинафина, терконазола, гидрохлорида тетрациклина, тиокконазола и толнафтата. По меньшей мере одно лекарственное средство против чесотки или педикулицид может представлять собой по меньшей мере одно средство, выбранное из кротамитона, линдана, перметрина и пиретринов. По меньшей мере один кортикостероид для местного применения может представлять собой по меньшей мере один, выбранный из дипропионата бетаметазона, валерата бетаметазона, пропионата клобетазола, дезонида, дезоксиметазона, дексаметазона, фосфата дексаметазона натрия, диацетата дифлоразона, ацетонида флуоцинолона, флуоцинонида, флурандренолида, флутиказона пропионата, галционида, гидрокортизона, ацетата гидрокортизона, бутирата гидрокортизона, валерата гидрокортизона, фууроата мометазона и ацетонида триамцинолона (см., например, стр. 1098–1136 в Nursing 2001 Drug Handbook).

Композиции антител к IL12/23p40 могут дополнительно содержать по меньшей мере одно из любых приемлемых и эффективных количеств композиции или фармацевтической композиции, содержащей по меньшей мере одно антитело к IL12/23p40, которое приводят в контакт (или вводят в них) с клеткой, тканью, органом, животным или субъектом, нуждающимся в таком модулировании, лечении или 5 терапии, дополнительно необязательно содержащей по меньшей мере одно средство, выбранное из по меньшей мере одного антагониста ФНО (например, без ограничений, химического или белкового антагониста ФНО, моноклонального или поликлонального антитела к ФНО или фрагмента, растворимого рецептора ФНО (например, p55, p70 или 10 p85) или фрагмента, их слитых полипептидов или низкомолекулярного антагониста ФНО, например связывающего ФНО белка I или II (ТВР-I или ТВР-II), нерелимонмаба, инфликсимаба, этернацепта, CDP-571, CDP-870, афелимомаба, ленерцепта и т. п.), противоревматического лекарственного средства (например, метотрексата, ауранофина, аурутиоглюкозы, азатиоприна, этанерцепта, тиомалата золота-натрия, сульфата 15 гидроксихлорохина, лефлуномида, сульфасалзина), иммунизации, иммуноглобулина, иммунодепрессанта (например, азатиоприна, базиликсимаба, циклоспорина, даклизумаба), цитокина или антагониста цитокина. Не имеющие ограничительного характера примеры таких цитокинов включают, без ограничений, любой из от IL-1 до IL-23 и др. (например, IL-1, IL-2 и т. д.). Приемлемые дозировки хорошо известны 20 специалистам в данной области. См., например, Wells et al., eds., *Pharmacotherapy Handbook*, 2nd Edition, Appleton and Lange, Stamford, CT (2000); *PDR Pharmacopoeia*, Tarascon Pocket Pharmacopoeia 2000, Deluxe Edition, Tarascon Publishing, Loma Linda, CA (2000), причем каждая из публикаций полностью включена в настоящий документ путем ссылки.

25 Соединения, композиции или комбинации антител к IL12/23p40, применяемые в способе по настоящему изобретению, могут дополнительно содержать по меньшей мере одно из любых приемлемых вспомогательных веществ, таких как, без 30 ограничения, разбавитель, связующее вещество, стабилизатор, буферы, соли, липофильные растворители, консервант, адъювант и т. п. Предпочтительными являются фармацевтически приемлемые вспомогательные вещества. Не имеющие ограничительного характера примеры таких стерильных растворов и способы их получения хорошо известны специалистам в данной области, например, без 35 ограничений, описаны в Gennaro, Ed., *Remington's Pharmaceutical Sciences*, 18th Edition, Mack Publishing Co. (Easton, PA) 1990. Фармацевтически приемлемые носители можно

выбирать обычным способом, исходя из приемлемости для пути введения, растворимости и/или стабильности композиции, содержащей антитело к IL12/23p40, фрагмент или вариант, как хорошо известно специалистам в данной области или описано в настоящем документе.

5 Фармацевтические эксципиенты и добавки, используемые в настоящей композиции, включают, без ограничений, белки, пептиды, аминокислоты, липиды и углеводы (например, сахара, включая моносахариды, ди-, три-, тетра- и олигосахариды; производные сахаров, такие как альдиты, альдоновые кислоты, этерифицированные сахара и т. п.; и полисахариды или полимеры сахаров), которые могут присутствовать
10 отдельно или в комбинации, составляя отдельно или в комбинации 1–99,99% по массе или по объему. Примеры белковых эксципиентов включают сывороточный альбумин, такой как человеческий сывороточный альбумин (HSA), рекомбинантный человеческий альбумин (rHA), желатин, казеин и т. п. Типичные компоненты аминокислот/антител, которые могут также выполнять буферную функцию, включают аланин, глицин,
15 аргинин, бетаин, гистидин, глутаминовую кислоту, аспарагиновую кислоту, цистеин, лизин, лейцин, изолейцин, валин, метионин, фенилаланин, аспартам и т. п. Одной предпочтительной аминокислотой является глицин.

Углеводные эксципиенты, приемлемые для применения в изобретении, включают, например, моносахариды, такие как фруктоза, мальтоза, галактоза, глюкоза,
20 D-манноза, сорбоза и т. п.; дисахариды, такие как лактоза, сахароза, трегалоза, целлобиоза и т. п.; полисахариды, такие как рафиноза, мелицитоза, мальтодекстрины, декстраны, крахмалы и т. п.; и альдиты, такие как маннит, ксилит, мальтит, лактит, ксилит, сорбит (глюцит), миоинозит и т. п. Предпочтительными углеводными эксципиентами для применения в настоящем изобретении являются маннит, трегалоза
25 и рафиноза.

Композиции антител к IL12/23p40 могут также включать буфер или агент, регулирующий pH; как правило, буфер представляет собой соль, полученную из органической кислоты или основания. Репрезентативные буферы включают соли органических кислот, такие как соли лимонной кислоты, аскорбиновой кислоты,
30 глюконовой кислоты, угольной кислоты, винной кислоты, янтарной кислоты, уксусной кислоты или фталевой кислоты; буферы Трис, гидрохлорида трометамин или фосфата. Предпочтительными буферами для применения в настоящих композициях являются соли органических кислот, такие как цитрат.

Дополнительно композиции антител к IL12/23p40 могут включать полимерные эксципиенты/добавки, такие как поливинилпирролидоны, фикоиллы (полимерный сахар), декстраты (например, циклодекстрины, такие как 2-гидроксипропил-β-циклодекстрин), полиэтиленгликоли, ароматизаторы, противомикробные агенты, подсластители, антиоксиданты, антистатические агенты, поверхностно-активные вещества (например, полисорбаты, такие как ТВИН-20 и ТВИН-80), липиды (например, фосфолипиды, жирные кислоты), стероиды (например, холестерин) и хелатирующие агенты (например, ЭДТА).

Эти и дополнительные известные фармацевтические эксципиенты и/или добавки, приемлемые для применения в композициях антител к IL12/23p40, участков или вариантов в соответствии с настоящим изобретением, известные специалистам в данной области, например, перечислены в Remington: The Science & Practice of Pharmacy, 19th ed., Williams & Williams, (1995), и в Physician's Desk Reference, 52nd ed., Medical Economics, Montvale, NJ (1998), содержание которых полностью включено в настоящий документ путем ссылки. Предпочтительными материалами-носителями или эксципиентами являются углеводы (например, сахариды и альдиты) и буферы (например, цитрат) или полимерные агенты. Примером молекулы-носителя является мукополисахарид, гиалуроновая кислота, которую можно использовать для внутрисуставного введения.

Составы

Как указано выше, в изобретении обеспечены стабильные составы, которые предпочтительно содержат фосфатно-солевой буферный раствор или выбранную соль, а также консервированные растворы и составы, содержащие консервант, а также консервированные составы для многократного применения, пригодные для фармацевтического или ветеринарного применения, содержащие по меньшей мере одно антитело к IL12/23p40 в фармацевтически приемлемом составе.

Консервированные составы содержат по меньшей мере один известный консервант или необязательно выбранный из группы, состоящей из по меньшей мере одного фенола, м-крезола, п-крезола, о-крезола, хлоркрезола, бензилового спирта, фенолртути нитрита, феноксиэтанола, формальдегида, хлорбутанола, хлорида магния (например, гексагидрата), алкилпарабена (метил-, этил-, пропил-, бутил- и т. п.), хлорида бензалкония, хлорида бензэтония, дегидроацетата натрия и тимеросала или их смесей в водном разбавителе. Как известно специалистам в данной области, можно использовать любую приемлемую концентрацию или смесь, такую как 0,001–5%, или любой

интервал, или значение в нем, например, без ограничений, 0,001, 0,003, 0,005, 0,009, 0,01, 0,02, 0,03, 0,05, 0,09, 0,1, 0,2, 0,3, 0,4, 0,5, 0,6, 0,7, 0,8, 0,9, 1,0, 1,1, 1,2, 1,3, 1,4, 1,5, 1,6, 1,7, 1,8, 1,9, 2,0, 2,1, 2,2, 2,3, 2,4, 2,5, 2,6, 2,7, 2,8, 2,9, 3,0, 3,1, 3,2, 3,3, 3,4, 3,5, 3,6, 3,7, 3,8, 3,9, 4,0, 4,3, 4,5, 4,6, 4,7, 4,8, 4,9, или любой интервал, или значение в нем. Не имеющие ограничительного характера примеры включают отсутствие консервантов, 0,1–2% м-крезола (например, 0,2, 0,3, 0,4, 0,5, 0,9, 1,0%), 0,1–3% бензилового спирта (например, 0,5, 0,9, 1,1, 1,5, 1,9, 2,0, 2,5%), 0,001–0,5% тимеросала (например, 0,005, 0,01%), 0,001–2,0% фенола (например, 0,05, 0,25, 0,28, 0,5, 0,9, 1,0%), 0,0005–1,0% алкилпарабена (-ов) (например, 0,00075, 0,0009, 0,001, 0,002, 0,005, 0,0075, 0,009, 0,01, 0,02, 0,05, 0,075, 0,09, 0,1, 0,2, 0,3, 0,5, 0,75, 0,9, 1,0%) и т. п.

Как отмечалось выше, в способе изобретения применяют промышленное изделие, содержащее упаковочный материал и по меньшей мере один флакон, содержащий раствор по меньшей мере одного антитела к ПЛ12/23р40 с предписанными буферами и/или консервантами, необязательно в водном разбавителе, причем указанный упаковочный материал содержит этикетку с указанием, что такой раствор можно хранить в течение 1, 2, 3, 4, 5, 6, 9, 12, 18, 20, 24, 30, 36, 40, 48, 54, 60, 66, 72 часов или дольше. В изобретении дополнительно применяют промышленное изделие, содержащее упаковочный материал, первый флакон, содержащий лиофилизированное антитело к ПЛ12/23р40, и второй флакон, содержащий водный разбавитель, состоящий из предписанного буфера или консерванта, причем указанный упаковочный материал содержит этикетку с инструкцией для субъекта о том, как разводить антитело к ПЛ12/23р40 в водном разбавителе с образованием раствора, который можно хранить в течение двадцати четырех часов или дольше.

Антитело к ПЛ12/23р40, применяемое в соответствии с настоящим изобретением, можно продуцировать рекомбинантными способами, в том числе из клетки млекопитающего или трансгенных препаратов, либо его можно очищать из других биологических источников, как описано в настоящем документе или как известно специалистам в данной области.

Диапазон количества антитела к ПЛ12/23р40 включает количества, которые после разведения (при использовании влажной/сухой системы) достигают концентраций от около 1,0 мкг/мл до около 1000 мг/мл, хотя меньшие и большие концентрации приемлемы и зависят от предполагаемой несущей среды для введения, например, составы раствора различаются для способов с трансдермальным пластырем,

введением через легкие, через слизистые оболочки, или осмотическим способом, или с помощью микродозатора.

Дополнительно водный разбавитель предпочтительно необязательно содержит фармацевтически приемлемый консервант. Предпочтительные консерванты включают те, что выбраны из группы, состоящей из фенола, м-крезола, п-крезола, о-крезола, хлоркрезола, бензилового спирта, алкилпарабена (метил-, этил-, пропил-, бутил- и т. п.), хлорида бензалкония, хлорида бензэтония, дегидроацетата натрия и тимеросала, или их смесей. Концентрации консерванта, применяемой в составе, должно быть достаточно для обеспечения противомикробного действия. Такие концентрации зависят от выбранного консерванта, и квалифицированный специалист в данной области без труда определяет ее.

Предпочтительно в разбавитель можно необязательно добавлять другие эксципиенты, например изотонические агенты, буферы, антиоксиданты и средства, усиливающие консервацию. Изотонические агенты, такие как глицерин, широко используют в известных концентрациях. Для улучшения контроля pH предпочтительно добавляют физиологически приемлемый буфер. Составы могут охватывать широкий диапазон pH, такой как от около pH 4 до около pH 10, с предпочтительным интервалом от около pH 5 до около pH 9 и наиболее предпочтительно от около pH 6,0 до около pH 8,0. Составы настоящего изобретения предпочтительно имеют pH от около 6,8 до около 7,8. Предпочтительные буферы включают фосфатные буферы, наиболее предпочтительно фосфат натрия, в частности фосфатно-солевой буфер (PBS).

Для уменьшения агрегации в составы или композиции можно необязательно добавлять другие добавки, такие как фармацевтически приемлемые солюбилизаторы, например твин-20 (полиоксиэтилен (20) сорбитанмонолаурат), твин-40 (полиоксиэтилен (20) сорбитанмонопальмитат), твин-80 (полиоксиэтилен (20) сорбитанмоноолеат), Pluronic F68 (блок-сополимеры полиоксиэтилена и полиоксипропилена) и PEG (полиэтиленгликоль), или неионные поверхностно-активные вещества, такие как полисорбат 20 или 80, либо полксамер 184 или 188, полиолы Pluronic®, другие блок-сополимеры, и хелатирующие вещества, такие как ЭДТА и ЭГТА. Эти добавки, в частности, используют, если для введения состава применяют насос или пластиковый контейнер. Наличие фармацевтически приемлемого поверхностно-активного вещества снижает склонность белка к агрегации.

Составы можно получать в процессе, который включает смешивание по меньшей мере одного антитела к IL12/23p40 и консерванта, выбранного из группы,

состоящей из фенола, м-крезола, п-крезола, о-крезола, хлоркрезола, бензилового спирта, алкилпарабена (метил-, этил-, пропил-, бутил- и т. п.), хлорида бензалкония, хлорида бензэтония, дегидроацетата натрия и тимеросала, или их смесей в водном разбавителе. Смешивание по меньшей мере одного специфического к IL12/23p40 антитела и консерванта в водном разбавителе осуществляют с помощью стандартных процедур растворения и смешивания. Например, для получения приемлемого состава соединяют отмеренное количество по меньшей мере одного специфического антитела к IL12/23p40 в буферном растворе с необходимым консервантом в буферном растворе в количествах, достаточных для получения требуемых концентраций белка и консерванта. Варианты этого процесса понятны специалисту в данной области. Например, для оптимизации с учетом концентрации и применяемого способа введения можно изменять такие факторы, как порядок добавления компонентов, внесение дополнительных добавок, температура и рН, при которых получают состав.

Составы можно предоставлять субъектам в виде прозрачных растворов или двойных флаконов, включающих флакон с лиофилизированным специфическим антителом к IL12/23p40, которое разводят содержащимися во втором флаконе водой, консервантом и/или эксципиентами, предпочтительно фосфатным буфером и/или физиологическим раствором и выбранной солью, в водном разбавителе. Либо один флакон с раствором, либо два флакона с составом, предполагающим смешивание, можно использовать многократно, и их достаточно для одного или множества циклов лечения субъекта, что, таким образом, может быть более удобно по сравнению с существующим в настоящее время режимом лечения.

Настоящие промышленные изделия используют как для немедленного введения, так и в течение периода двадцати четырех часов или дольше. Соответственно, заявляемые в настоящем документе промышленные изделия обеспечивают значительные преимущества для субъекта. Составы изобретения могут необязательно безопасно храниться при температуре от около 2 °С до около 40 °С и сохранять при этом биологическую активность белка в течение продолжительных периодов времени, в связи с чем на упаковке может быть этикетка, на которой указано, что раствор можно хранить и/или использовать в течение периода 6, 12, 18, 24, 36, 48, 72 или 96 часов или более. При использовании разбавителя с консервантом на такой этикетке может быть указан срок годности до 1–12 месяцев, полугодия, полутора и/или двух лет.

Растворы специфического антитела к IL12/23p40 можно получать способом, который включает смешивание по меньшей мере одного антитела в водном

разбавителе. Смешивание осуществляют с помощью стандартных процедур растворения и смешивания. Например, чтобы получить приемлемый разбавитель, отмеренное количество по меньшей мере одного антитела в воде или буфере соединяют в количествах, достаточных для получения требуемых концентраций белка и
 5 необязательно консерванта или буфера. Варианты этого процесса понятны специалисту в данной области. Например, для оптимизации с учетом концентрации и применяемого способа введения можно изменять такие факторы, как порядок добавления компонентов, внесение дополнительных добавок, температура и pH, при которых получают состав.

10 Заявленные продукты можно предоставлять субъектам в виде прозрачных растворов или двойного флакона, включая флакон с лиофилизированным антителом к IL12/23p40, которое разводят содержащимся во втором флаконе водным разбавителем. Либо один флакон с раствором, либо два флакона с составом, предполагающим
 смешивание, можно использовать многократно, и их достаточно для одного или
 15 множества циклов лечения субъекта, что, таким образом, более удобно по сравнению с существующим в настоящее время режимом лечения.

Заявленные продукты можно предоставлять субъектам не напрямую, а посредством поставки в аптеки, клиники или другие такие учреждения и организации прозрачных растворов или двойных флаконов, содержащих флакон с
 20 лиофилизированным антителом к IL12/23p40, которое разводят содержащимся во втором флаконе водным разбавителем. В этом случае объем прозрачного раствора может составлять до одного литра или даже больше и тем самым обеспечивать большой сосуд, из которого в аптеке или клинике можно извлекать раствор малыми порциями по меньшей мере одного антитела, однократно или многократно, для
 25 переливания во флаконы меньшего размера и выдачи покупателям и/или субъектам.

Общепризнанные устройства, содержащие системы с одним флаконом, включают устройства для инъекций типа шприца-ручки, такие как BD Pens, BD Autojector[®], Humaject[®], NovoPen[®], B-D[®] Pen, OnePress[®] (SelfDose[®]), AutoPen[®], and OptiPen[®], GenotropinPen[®], Genotronorm Pen[®], Humatro Pen[®], Reco-Pen[®], Roferon Pen[®],
 30 Biojector[®], Iject[®], J-tip Needle-Free Injector[®], Intraject[®], Medi-Ject[®], Smartject[®], например, изготовленные или разработанные компаниями Becton Dickenson (г. Франклин Лейкс, штат Нью-Джерси, США, www.bectondickenson.com), Disetronic (г. Бургдорф, Швейцария, www.disetronic.com; Bioject, г. Портленд, штат Орегон, США

(www.bioject.com); National Medical Products, Weston Medical (г. Питерборо, Великобритания, www.weston-medical.com), Medi-Ject Corp. (г. Миннеаполис, штат Миннесота, США, www.mediject.com), и подобные приемлемые устройства.

5 Признанные устройства, содержащие системы из двух флаконов, включают такие системы шприца-ручки для разведения лиофилизированного лекарственного средства в картридже для доставки разведенного раствора, например HumatroPen®. Примеры других приемлемых устройств включают предварительно заполненные шприцы, автоинжекторы, безыгольные инжекторы и безыгольные наборы для внутривенного вливания.

10 Продукты могут включать упаковочный материал. В дополнение к информации по требованию контролирующих органов, на упаковочном материале также указывают условия, при которых можно использовать продукт. Упаковочный материал настоящего изобретения содержит инструкции для субъекта, если применимо, по разведению по меньшей мере одного антитела к IL12/23p40 в водном разбавителе с
15 получением раствора, и по использованию раствора в течение периода 2–24 часов или дольше в случае двух флаконов, влажного/сухого, с продуктом. Для одного флакона с продуктом в виде раствора, предварительно заполненного шприца или автоинжектора на упаковке указывают, что такой раствор можно использовать в течение периода 2–24 часов или дольше. Продукты используются человеком в фармацевтических целях.

20 Составы, применяемые в способе настоящего изобретения, можно получать процессом, который включает смешивание антитела к IL12/23p40 и выбранного буфера, предпочтительно фосфатного буфера, содержащего физиологический раствор или выбранную соль. Смешивание антитела к IL12/23p40 и буфера в водном разбавителе осуществляют с использованием стандартных процедур растворения и
25 смешивания. Например, чтобы получить приемлемый состав, отмеренное количество по меньшей мере одного антитела в воде или буфере соединяют с требуемым буферным агентом в воде в количествах, достаточных для получения требуемых концентраций белка и буфера. Варианты этого процесса понятны специалисту в данной области. Например, для оптимизации с учетом концентрации и применяемого способа
30 введения можно изменять такие факторы, как порядок добавления компонентов, внесение дополнительных добавок, температура и pH, при которых получают состав.

В способе изобретения обеспечены фармацевтические композиции, содержащие различные составы, используемые и приемлемые для введения субъекту-человеку или субъекту-животному. Такие фармацевтические композиции получают с

использованием воды в «стандартном состоянии» в качестве разбавителя и путем обычных способов, хорошо известных обычным специалистам в данной области. Например, сначала можно предоставить буферные компоненты, такие как гистидин и моногидрохлорида гидрат гистидина, с последующим добавлением подходящего, не конечного объема водного разбавителя, сахарозы и полисорбата-80 в «стандартном состоянии». Впоследствии можно добавлять изолированное антитело. Наконец, объем фармацевтической композиции доводят до требуемого конечного объема в условиях «стандартного состояния» добавлением в качестве разбавителя воды. Специалисты в данной области определяют ряд других способов, приемлемых для получения фармацевтических композиций.

Фармацевтические композиции могут представлять собой водные растворы или суспензии, содержащие указанную массу каждого компонента на единицу объема воды или имеющие в «стандартном состоянии» указанный рН. При использовании в настоящем документе термин «стандартное состояние» означает температуру $25\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ и давление в 1 атмосферу. Термин «стандартное состояние» не используется в данной области для обозначения одного признанного набора температур или давления, но вместо этого является эталонным состоянием, которое определяет температуру и давление, установленные для описания раствора или суспензии с определенной композицией в эталонных условиях «стандартного состояния». Это связано с тем, что объем раствора частично зависит от температуры и давления. Специалисты в данной области поймут, что фармацевтические композиции, эквивалентные описанным в настоящем документе, можно продуцировать при других значениях температуры и давления. Эквивалентны ли такие фармацевтические композиции описанным в настоящем документе, следует определять в условиях «стандартного состояния», определенных выше (например, температура $25\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ и давление 1 атмосфера).

Важно отметить, что такие фармацевтические композиции могут содержать массы компонентов «около» определенного значения (например, «около 0,53 мг L-гистидина») на единицу объема фармацевтической композиции или иметь значения рН около определенного значения. Масса компонента, присутствующего в фармацевтической композиции, или значение рН находится «около» данного численного значения, если изолированное антитело, присутствующее в фармацевтической композиции, способно связываться с пептидной цепью при нахождении изолированного антитела в фармацевтической композиции или после удаления изолированного антитела из фармацевтической композиции (например, при

разведении). Иначе говоря, значение, такое как значение массы компонента или значение рН, составляет «около» заданного численного значения при сохранении и обнаружении активности связывания изолированного антитела после помещения изолированного антитела в фармацевтическую композицию.

5 Чтобы определить, связываются ли специфичные к IL12/23p40 мАт с аналогичными или отличающимися эпитопами и/или конкурируют ли они друг с другом, проводят анализ конкурентного связывания. Антитела наносят по отдельности на планшеты для ИФА на твердой фазе в виде покрытия. Добавляют конкурирующие мАт с последующим добавлением биотинилированных hrIL-12 или IL-23. Для 10 положительного контроля в качестве конкурирующего мАт можно использовать то же мАт, что и для покрытия («самоконкуренция»). Связывание с IL12/IL23p40 или IL-23 определяют с помощью стрептавидина. Эти результаты показывают, распознают ли мАт сходные или частично перекрывающиеся эпитопы на IL12/23p40 или IL-23.

В одном варианте осуществления фармацевтических композиций концентрация 15 изолированного антитела составляет от около 77 до около 104 мг на мл фармацевтической композиции. В другом варианте осуществления фармацевтических композиций рН составляет от около 5,5 до около 6,5.

Стабильные или консервированные составы можно предоставлять субъектам в виде прозрачных растворов или двух флаконов, содержащих флакон с по меньшей мере 20 одним лиофилизированным антителом к IL12/23p40, которое разводят содержащимися во втором флаконе консервантом или буфером и эксципиентами в водном разбавителе. Либо один флакон с раствором, либо два флакона с составом, предполагающим смешивание, можно использовать многократно, и их достаточно для одного или множества циклов лечения субъекта, что, таким образом, более удобно по сравнению с 25 существующим в настоящее время режимом лечения.

С помощью других составов или способов стабилизации антител к IL12/23p40 можно получать содержащее антитело средство, отличное от прозрачного раствора лиофилизированного порошка. К непрозрачным растворам относятся составы, 30 содержащие взвешенные частицы, причем указанные частицы представляют собой композиции, содержащие антитело к IL12/23p40 в структуре с варьирующим размером, и известны под различными названиями, такими как микросферы, микрочастицы, наночастицы, наносферы или липосомы. Такие относительно однородные, по существу сферические, составы в виде частиц, содержащие активный агент, можно формировать путем связывания водной фазы, содержащей активный агент и полимер, с неводной

фазой, с последующим испарением неводной фазы и слиянием частиц из водной фазы, как описано в патенте США № 4,589,330. Пористые микрочастицы можно получать с помощью первой фазы, содержащей активный агент и полимер, диспергированные в непрерывном растворителе, и посредством удаления указанного растворителя из суспензии способом сублимационной сушки либо разбавления, экстракции и осаднения, как описано в патенте США № 4,818,542. Предпочтительными полимерами для таких препаратов являются естественные или синтетические сополимеры, либо полимеры, выбранные из группы, состоящей из желатинового агара, крахмала, арабиногалактана, альбумина, коллагена, полигликолевой кислоты, полимолочной кислоты, гликолид-L(-)-лактида, поли(эпсилон-капролактона), поли(эпсилон-капролактон-СО-молочной кислоты), поли(эпсилон-капролактон-СО-гликолевой кислоты), поли(β -гидроксимасляной кислоты), полиэтиленоксида, полиэтилена, поли(алкил-2-цианакрилата), поли(гидроксиэтилметакрилата), полиамидов, поли(аминокислот), поли(2-гидроксиэтил-DL-аспартамида), поли(сложного эфира мочевины), поли(L-фенилаланин/этиленгликоль/1,6-диизоцианатгексана) и поли(метилметакрилата). Наиболее предпочтительными полимерами являются полиэфиры, такие как полигликолевая кислота, полимолочная кислота, гликолид-L(-)-лактид, поли(эпсилон-капролактон), поли(эпсилон-капролактон-СО-молочная кислота) и поли(эпсилон-капролактон-СО-гликолевая кислота). Растворители, используемые для растворения полимера и/или активного вещества, включают: воду, гексафторизопропанол, метиленхлорид, тетрагидрофуран, гексан, бензол или полуторагидрат гексафторацетона. Процесс диспергирования содержащей активное вещество фазы со второй фазой может включать принудительный пропуск указанной первой фазы через отверстие в сопле для образования капель.

Составы в виде сухого порошка можно получать иными процессами помимо лиофилизации, например путем распылительной сушки, экстракции растворителя испарением или осаднения кристаллической композиции, с последующими одной или более стадиями удаления водного или неводного растворителя. Получение препарата антитела путем распылительной сушки описано в патенте США № 6,019,968.

Композиции антитела в виде сухого порошка можно получать путем распылительной сушки растворов или суспензий антитела и необязательно эксципиентов в растворителе в условиях, обеспечивающих получение вдыхаемого сухого порошка. Растворители могут включать полярные соединения, такие как вода и этанол, которые можно легко высушивать. Стабильность антитела можно усиливать путем выполнения процедур

распылительной сушки в отсутствии кислорода, например под слоем азота или с применением азота в качестве сушильного газа. Другой относительно сухой состав является дисперсией множества перфорированных микроструктур, диспергированных в суспензионной среде, обычно содержащей пропеллент гидрофторалкан, как описано в WO 9916419. Стабилизированные дисперсии можно вводить в легкие субъекта с помощью ингалятора отмеренных доз. Оборудование, используемое для промышленного производства лекарственного средства путем распылительной сушки, выпускается Buchi Ltd. или Niro Corp.

Антитело к IL12/23p40 в стабильных или консервированных составах или растворах, описанных в настоящем документе, в соответствии с настоящим изобретением можно вводить субъекту с помощью разных способов доставки, включая подкожную или внутримышечную инъекцию; трансдермальное введение, введение в легкие, через слизистую оболочку, посредством имплантата, осмотического дозатора, кассеты, микродозатора или других способов, признанных специалистами в данной области, как хорошо известно в данной области.

Терапевтическое применение

В настоящем изобретении также предложен способ модуляции или лечения язвенного колита в клетке, ткани, органе, у животного или у субъекта, известный специалистам в данной области или описанный в настоящем документе, с применением по меньшей мере одного антитела к IL12/23p40 настоящего изобретения, например путем введения или приведения в контакт клетки, ткани, органа, животного или субъекта с терапевтически эффективным количеством специфического антитела к IL12/23p40.

Любой способ настоящего изобретения может включать введение эффективного количества композиции или фармацевтической композиции, содержащей антитело к IL12/23p40, в клетку, ткань, орган, животному или субъекту, нуждающемуся в такой модуляции, лечении или терапии. Такой способ может необязательно дополнительно включать совместное введение или применение комбинированной терапии для лечения таких заболеваний или расстройств, причем введение антитела к IL12/23p40, его определенного участка или варианта, дополнительно включает введение (перед, во время и/или после) по меньшей мере одного средства, выбранного из по меньшей мере одного антагониста ФНО (например, без ограничений, химического или белкового антагониста ФНО, моноклонального или поликлонального антитела к ФНО или его фрагмента, растворимого рецептора ФНО (например, p55, p70 или p85) или его

фрагмента, их слитых полипептидов, или низкомолекулярного антагониста ФНО, например связывающего ФНО белка I или II (ТВР-1 или ТВР-II), нерелимонмаба, инфликсимаба, этернацепта (Enbrel™), адалимулаба (Humira™), CDP-571, CDP-870, афелимомаба, ленерцепта и т. п.), противоревматического лекарственного средства (например, метотрексата, ауранофина, аурутиоглюкозы, азатиоприна, тиомалата золота-натрия, сульфата гидроксихлорохина, лефлуномида, сульфасалзина), миорелаксанта, наркотического лекарственного средства, нестероидного противовоспалительного препарата (НПВС) (например, 5-аминосалицилат), анальгетика, анестезирующего лекарственного средства, седативного лекарственного средства, лекарственного средства местной анестезии, нервно-мышечного блокатора, противомикробного лекарственного средства (например, аминогликозида, противогрибкового лекарственного средства, противопаразитарного лекарственного средства, противовирусного лекарственного средства, карбапенема, цефалоспорина, фторхинолона, макролида, пенициллина, сульфонамида, тетрациклина, другого противомикробного лекарственного средства), противопсориатического лекарственного средства, кортикостероида, анаболического стероида, лекарственного средства для лечения сахарного диабета, минерала, диетического лекарственного средства, тиреоидного лекарственного средства, витамина, гормона регуляции кальция, лекарственного средства против диареи, лекарственного средства против кашля, противорвотного лекарственного средства, лекарственного средства против язвы, слабительного лекарственного средства, антикоагулянта, эритропоэтина (например, эпоэтина альфа), филграстима (например, G-CSF, Neupogen), сарграмостима (GM-CSF, Leukine), иммунизации, иммуноглобулина, иммунодепрессанта (например, базиликсимаба, циклоспорина, даклизумаба), гормона роста, заместительной гормональной терапии, модулятора рецепторов эстрогена, мидриатика, лекарственного средства циклоплегии, алкилирующего агента, антимаболита, ингибитора митоза, радиофармацевтического лекарственного средства, антидепрессанта, лекарственного средства против мании, антипсихотического лекарственного средства, анксиолитического лекарственного средства, снотворного лекарственного средства, симпатомиметика, возбуждающего лекарственного средства, донепезила, такрина, лекарственного средства для лечения астмы, бета-агониста, стероида для ингаляции, ингибитора лейкотриена, метилксантина, кромолина, адреналина или его аналога, дорназы альфа (Pulmozyme), цитокина или антагониста цитокина. Приемлемые дозировки хорошо известны специалистам в данной области. См., например, Wells et

al., eds., Pharmacotherapy Handbook, 2nd Edition, Appleton and Lange, Stamford, CT (2000); PDR Pharmacopoeia, Tarascon Pocket Pharmacopoeia 2000, Deluxe Edition, Tarascon Publishing, Loma Linda, CA (2000); Nursing 2001 Handbook of Drugs, 21st edition, Springhouse Corp., Springhouse, PA, 2001; Health Professional's Drug Guide 2001, ed., Shannon, Wilson, Stang, Prentice-Hall, Inc, Upper Saddle River, NJ, причем каждая из них полностью включена в настоящий документ путем ссылки.

Терапевтические способы лечения

На лечение язвенного колита влияет введение нуждающемуся в этом субъекту эффективного количества или дозы композиции антитела к IL12/23p40. Вводимые дозы могут варьироваться в зависимости от известных факторов, таких как фармакодинамические показатели конкретного агента, способ и путь его введения; возраст, состояние здоровья и масса реципиента; природа и степень выраженности симптомов, тип сопутствующего лечения, частота введения и требуемый эффект. В некоторых случаях для достижения требуемого терапевтического количества может понадобиться выполнение повторного введения, т. е. повторных отдельных введений конкретной контролируемой или измеренной дозы, причем отдельные введения повторяют до достижения требуемой суточной дозы или эффекта.

В одном примере схемы обеспечения безопасного и эффективного лечения болезни Крона у нуждающегося в этом субъекта общую дозу около 130 мг антитела к IL12/23p40 вводят субъекту внутривенно за одно введение. Например, общий объем вводимой композиции корректируют соответствующим образом, чтобы субъект получил целевую дозу 80 мг, 90 мг, 100 мг, 110 мг, 120 мг, 130 мг, 140 мг, 150 мг, 160 мг, 170 мг или 180 мг антитела за одно введение.

В другом примере схемы обеспечения безопасного и эффективного лечения ЯК с тяжелым течением у нуждающегося в этом субъекта общую дозу около $6,0 \text{ мг/кг} \pm 1,5 \text{ мг/кг}$ антитела к IL12/23p40 вводят субъекту внутривенно за одно введение. Например, общий объем вводимой композиции корректируют соответствующим образом, чтобы субъект получил целевую дозу антитела 3,0 мг/кг, 3,5 мг/кг, 4,0 мг/кг, 4,5 мг/кг, 5,0 мг/кг, 5,5 мг/кг, 6,0 мг/кг, 6,5 мг/кг, 7,0 мг/кг, 7,5 мг/кг, 8,0 мг/кг, 8,5 мг/кг или 9,0 мг/кг массы тела субъекта за одно введение.

Общую дозу антитела к IL12/23p40 для введения субъекту за одно введение можно вводить в виде внутривенной инфузии в течение периода времени от около 30 минут до 180 минут, предпочтительно от 60 минут до 120 минут, например 30 минут, 60 минут, 90 минут, 120 минут, 150 минут или 180 минут.

В еще одном примере схемы обеспечения безопасного и эффективного лечения ЯК с тяжелым течением у нуждающегося в этом субъекта общую дозу около 90 мг антитела к IL12/23p40 вводят субъекту подкожно за одно введение. Например, общий объем вводимой композиции корректируют соответствующим образом, чтобы субъект получил целевую дозу 40 мг, 50 мг, 60 мг, 70 мг, 80 мг, 90 мг, 100 мг, 110 мг, 120 мг, 130 мг или 140 мг антитела за одно введение. Целевую дозу для одного введения можно вводить в виде одной подкожной инъекции или множества подкожных инъекций, например 1, 2, 3, 4, 5 или более подкожных инъекций.

Общую дозу антитела к IL12/23p40 можно вводить один раз в день, один раз в неделю, один раз в месяц, один раз в шесть месяцев и т. д. в течение периода, составляющего одну неделю, один месяц, шесть месяцев, 1 год, 2 года или более. Множество введений антитела к IL12/23p40, каждое в общей дозе, описанной в настоящем документе, можно вводить нуждающемуся в этом субъекту.

Лекарственные формы (композиция), приемлемые для внутреннего введения, по существу содержат от около 0,001 мг до около 500 мг активного ингредиента на единицу или контейнер.

Для парентерального введения антитела лекарственная форма может представлять собой раствор, суспензию, эмульсию, частицу, порошок или лиофилизированный порошок вместе с фармацевтически приемлемым носителем для парентерального введения или отдельно от носителя. Примерами таких носителей являются вода, физиологический раствор, раствор Рингера, раствор глюкозы и человеческий сывороточный альбумин 1–10%. Кроме того, можно применять липосомы и безводные среды, например нелетучие масла. Носитель или лиофилизированный порошок может содержать добавки, способствующие изотоничности (например, хлорид натрия, маннит) и химической стабильности (например, буферы и консерванты). Состав стерилизуют известными или приемлемыми методиками.

Приемлемые фармацевтические носители описаны в последнем издании Remington's Pharmaceutical Sciences, A. Osol, которое является стандартным источником ссылок в данной области.

В соответствии с настоящим изобретением для введения фармацевтически эффективных количеств антитела к IL12/23p40 можно применять множество известных и разработанных способов ведения. Антитела к IL12/23p40 настоящего изобретения можно доставлять в носителе в виде раствора, эмульсии, коллоида или суспензии, либо

в виде сухого порошка с применением любого из множества устройств и способов, приемлемых для введения путем ингаляции или другими способами, описанными в настоящем документе или известными специалистам в данной области.

5 Составы для парентерального введения могут в качестве обычных эксципиентов содержать стерильную воду, физиологический раствор, полиалкиленгликоли, такие как полиэтиленгликоль, масла растительного происхождения, гидрогенизированные нафталины и т. п. Водные или масляные суспензии для инъекций можно получать с использованием подходящего эмульгатора или увлажнителя и суспендирующего агента известными способами. Для инъекций можно использовать нетоксичный, пригодный
10 для неперорального введения, разбавляющий агент, например водный раствор, стерильный раствор для инъекций или суспензию в растворителе. В качестве пригодной несущей среды или растворителя допустимо использовать воду, раствор Рингера, изотонический раствор и т. п.; в качестве обычного растворителя или суспендирующего растворителя можно использовать стерильное нелетучее масло. Для
15 этого можно использовать нелетучее масло и жирную кислоту любого вида, включая природные или синтетические либо полусинтетические жирные масла или жирные кислоты; природные или синтетические либо полусинтетические моно-, ди- или триглицериды. Парентеральное введение известно в данной области и включает, без ограничений, общепринятые средства инъекции, пневматическое безыгольное
20 инъекционное устройство, описанное в патенте США № 5,851,198, и лазерный перфоратор, описанный в патенте США № 5,839,446, полностью включенные в настоящий документ путем ссылки.

Альтернативные способы доставки

Изобретение дополнительно относится к введению антитела к IL12/23p40 путем
25 парентерального, подкожного, внутримышечного, внутривенного, внутрисуставного, внутрибронхиального, внутрибрюшного, интракапсулярного, внутрихрящевого, внутripолостного, интрацелиального, внутримозжечкового, внутрижелудочкового, в толстую кишку, интрацервикального, внутрижелудочного, внутripеченочного, интрамиокардиального, внутрикостного, внутритазового, интраперикардиального,
30 внутрибрюшинного, интраплеврального, в предстательную железу, внутripлегочного, интраректального, интраренального, интраретинального, интраспинального, интрасиновиального, внутripгрудного, внутриматочного, внутripузырного, в пораженные ткани, болюсного, вагинального, ректального, буккального, подъязычного, интраназального или чрескожного введения. Композицию антитела к IL12/23p40

можно получать для применения парентеральным (подкожным, внутримышечным или внутривенным) или любым другим способом введения, в частности в форме жидких растворов или суспензий; для применения вагинальным или ректальным способом введения, в частности в мягких формах, таких как, без ограничений, кремы и суппозитории; для трансбуккального или подъязычного введения, например, без ограничений, в форме таблеток или капсул; или для интраназального введения, например, без ограничений, в форме порошков, капель в нос или аэрозолей, либо в виде определенных агентов; или для введения трансдермально, например, без ограничений, в виде систем доставки в геле, мази, лосьоне, суспензии или пластыре с химическими ускорителями, такими как диметилсульфоксид, либо для модификации структуры кожи, либо для повышения концентрации лекарственного средства в трансдермальном пластыре (Junginger, et al. In "Drug Permeation Enhancement"; Hsieh, D. S., Eds., pp. 59–90 (Marcel Dekker, Inc. New York 1994, публикация полностью включена в настоящий документ путем ссылки), или с окисляющими агентами, которые облегчают нанесение составов, содержащих белки и пептиды, на кожу (WO 98/53847), или с применением электрического поля для создания временных траекторий доставки, например, путем электропорации, или для ускорения движения заряженных лекарственных средств через кожу, например, путем ионофореза, или применения ультразвука, например сонофореза (патенты США № 4,309,989 и 4,767,402) (приведенные выше публикации и патенты полностью включены в настоящий документ путем ссылки).

ВАРИАНТЫ ОСУЩЕСТВЛЕНИЯ

В изобретении также предложены следующие не имеющие ограничительного характера варианты осуществления.

1. Способ лечения болезни Крона у нуждающегося в этом субъекта, включающий:
проведение эндоскопии у субъекта перед введением препарата для измерения простого эндоскопического индекса активности болезни Крона (SES-CD) и исходного CDAI;
введение субъекту фармацевтической композиции, содержащей клинически подтвержденное безопасное и клинически подтвержденное эффективное количество антитела к IL-12/IL-23p40, причем антитело содержит переменную область тяжелой цепи и переменную область легкой цепи, при этом переменная область тяжелой цепи содержит: аминокислотную последовательность определяющую комплементарность области тяжелой цепи 1 (CDRH1) SEQ ID NO:1; аминокислотную последовательность CDRH2 SEQ ID

- NO:2; и аминокислотную последовательность CDRH3 SEQ ID NO:3; а
 переменная область легкой цепи содержит: аминокислотную
 последовательность определяющей комплементарность области легкой цепи 1
 (CDRL1) SEQ ID NO:4; Аминокислотную последовательность CDRL2 SEQ ID
 5 NO:5; и аминокислотную последовательность CDRL3 SEQ ID NO:6 в исходной
 дозе внутривенно в расчете на вес 6 мг антитела на кг веса субъекта и
 подкожной дозе 90 мг антитела через 8 недель после введения начальной дозы;
 измерение (i) связанных с болезнью Крона биомаркеров, выбранных
 между уровнем С-реактивного белка (CRP) и/или фекального кальпротектина
 10 (Fcal), и (ii) клинических симптомов, выбранных между CDAI и SES-CD
 субъекта через 16 недель после введения начальной дозы; и
 введение (iii) 90 мг антитела подкожно через 16 недель после введения
 начальной дозы и каждые четыре недели после подкожного введения через
 16 недель субъектам, у которых оценка по CDAI < 220, улучшение по CDAI
 15 менее чем на 70 баллов по сравнению с исходным уровнем, $CRP \leq 10$ мг/л и/или
 $Fcal \leq 250$ мкг/г, или (iv) 90 мг антител подкожно через 16 недель после
 введения начальной дозы и каждые восемь недель после подкожного введения
 через 16 недель у субъектов, у которых состояние по SES-CD улучшилось менее
 чем на 25% по сравнению с исходной оценкой SES-CD.
- 20 2. Способ по варианту осуществления 1, в котором антитело содержит
 переменную область тяжелой цепи с аминокислотной последовательностью
 SEQ ID NO:7 и переменную область легкой цепи с аминокислотной
 последовательностью SEQ ID NO:8.
- 25 3. Способ по варианту осуществления 1, в котором антитело содержит тяжелую
 цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO:10 и легкую цепь с
 аминокислотной последовательностью SEQ ID NO:11.
4. Способ по любому из вариантов осуществления 1–3, в котором антитело вводят
 субъекту внутривенно в дозе около 6,0 мг/кг массы тела субъекта или 130 мг за
 одно введение предпочтительно на 0-й неделе лечения.
- 30 5. Способ по любому из вариантов осуществления 1–4, отличающийся тем, что
 антитело дополнительно вводят субъекту подкожно, предпочтительно на 8-й и
 16-й неделе лечения, и предпочтительно каждые 4 или 8 недель после этого, как
 определено измеренными клиническими параметрами, в дозе около 90 мг на
 одно введение.

6. Способ по любому одному из вариантов осуществления 1–5, в котором ранее по меньшей мере одна схема лечения, выбранная из группы субъектов, которые получали антитела против ФНО, ведолизумаб, кортикостероид, азатиоприн (AZA) и 6-меркаптопурин (6 МР), оказалась неэффективной или непереносимой для субъекта, или у субъекта проявилась кортикостероидная зависимость.
7. Способ по любому одному из вариантов осуществления 1–6, в котором фармацевтическая композиция для внутривенного введения дополнительно содержит раствор, содержащий 10 мМ L-гистидина, 8,5% (масс./об.) сахарозы, 0,04% (масс./об.) полисорбата 80, 0,4 мг/мл L-метионина и 20 мкг/мл дегидрата динатриевой соли ЭДТА, рН 6,0.
8. Способ по любому одному из вариантов осуществления 1–6, в котором фармацевтическая композиция для подкожного введения дополнительно содержит раствор 6,7 мМ L-гистидина, 7,6% (масс./об.) сахарозы, 0,004% (масс./об.) полисорбата 80, рН 6,0.

Приведенное выше описание изобретения по существу дополнительно разъясняется далее с помощью примеров, которые представлены в качестве иллюстрации и не являются ограничивающими. Подробное описание изобретения иллюстрируют следующими ниже не имеющими ограничительного характера примерами. Описание всех цитат в спецификации прямо включено в настоящий документ путем ссылки.

ПРИМЕР

Пример. Исследование фазы 3b устекинумаба для лечения пациентов с болезнью Крона для сравнения стратегии лечения до достижения цели (T2T) со стандартным лечением (SoC)

Краткое описание способов

Были включены взрослые пациенты с активной болезнью Крона (БК) от умеренной до тяжелой степени (индекс активности БК [CDAI] 220–450) и простым эндоскопическим индексом при БК [SES-CD] ≥ 3), у которых традиционная терапия и/или один биологический препарат оказались неэффективными. Пациенты получали внутривенно устекинумаб (UST) в дозе ~6 мг/кг в зависимости от массы тела на неделе 0 (исходный уровень); подкожно (п/к) UST 90 мг на 8 неделе. На 16-й неделе, после эндоскопии, проведенной у пациентов, 70 пациентов, ответивших на лечение

CDAI, были рандомизированы (1:1) в группы лечения T2T или SoC. Пациентам в группе T2T назначали UST подкожно каждые 12 или 8 недель на основании 25-процентного улучшения оценки по SES-CD по сравнению с исходным уровнем. С 16-й по 48-ю недели дозу UST дополнительно корректировали до каждые 4 недели, если не

 5 были достигнуты следующие целевые показатели: CDAI < 220 и улучшение на ≥ 70 баллов по сравнению с исходным уровнем и С-реактивный белок (CRP) ≤ 10 мг/л или фекальный кальпротектин (FCal) ≤ 250 мкг/г. Участие пациентов, которые не достигли цели лечения несмотря на UST каждые 4 недели, было прекращено. В группе SoC доза UST назначалась исследователем на основе Инструкции по применению

 10 лекарственного вещества для стран-членом ЕС (каждые 12 или 8 недель). Первичная конечная точка: эндоскопический ответ на 48-й неделе ($\geq 50\%$ снижение по SES-CD по сравнению с исходным уровнем при эндоскопии с центральным чтением). Для отсутствующих неоднозначных и непрерывных переменных использовались замена недостающих значений данными об отсутствии ответа на лечение (NRI) и

 15 использование последнего документированного значения (LOCF) соответственно. Анализ LOCF также был заранее запланированным анализом чувствительности для первичной конечной точки. Все приведенные р-значения являются номинальными.

Сводные результаты

20 Всего в исследование были включены 500 пациентов. На 16-й неделе 441 субъект достиг ответа по CDAI 70 и был рандомизирован в группу T2T (n = 220) или SoC (n = 221); 75% и 86% в T2T и SoC соответственно завершили участие через 48 недель. Численно более высокая доля пациентов в группе T2T по сравнению с SoC достигла первичной конечной точки на 48-й неделе: 37,7% против 29,9% (p = 0,0933).

 25 Предварительном анализе чувствительности (LOCF) была достигнута значительная разница между группами: 40,0% (T2T) по сравнению с 30,8% (SoC) (p = 0,0494 (LOCF)); На 48-й неделе высокие показатели клинического ответа были достигнуты в обеих группах T2T и SoC: 68,2% по сравнению с 77,8% (p = 0,0212) (NRI)/89,5% по сравнению с 89,6% (LOCF; H3); клиническая ремиссия 61,4% по сравнению с 69,7% (NRI)/76,8% по сравнению с 78,3% (LOCF; H3); улучшение $\geq 50\%$ по FCal 39,4% по сравнению с 46,5% (NRI)/63,1% по сравнению с 60,6% (LOCF; H3) и уровни CRP 41,7%

 30 по сравнению с 53,3% p = 0,032 (NRI)/53,2% по сравнению с 57,2% (LOCF, H3). См. таблицы для других конечных точек. В группе T2T и SoC 59,2% (122/206) и 53,2% (116/218) пациентов начали прием UST каждые 12 недель; 59,8% (73/122) и 63,8%

(74/116) из них все еще принимали препарат каждые 12 недель на 48-й неделе. Из пациентов, начавших лечение каждые 8 недель, 40,5 (34/84) и 78,4% (80/102) продолжали лечение по этой схеме на 48-й неделе в группах T2T и SoC соответственно. На 48-й неделе 17% (35/206) пациентов принимали препарат каждые 4 недели в группе T2T. О новых сигналах безопасности не сообщалось.

Долгосрочная расширенная часть исследования (long-term extension, LTE; с 48-й по 104-ю неделю) была разработана для изучения эффективности препарата в отношении клинических симптомов, эндоскопии и алгоритма корректировки дозы на основе биомаркеров (включая последовательное понижение дозы). С 48-й недели пациенты продолжали получать подкожно устекинумаб в период LTE до 104-й недели. Частота введения устекинумаба с повышением/понижением дозы между разом в 12/8/4 недель основывалась на следующих целевых показателях: эндоскопическая ремиссия (с простым эндоскопическим индексом при БК [SES-CD] ≤ 2 баллов) и клиническая ремиссия без приема кортикостероидов (КС) ([CDAI < 150 баллов] длительностью ≥ 16 недель) на неделе 48; и позже, при клинической ремиссии без КС и ремиссии по биомаркерам (С-реактивный белок ≤ 10 мг/л и фекальный кальпротектин ≤ 250 мкг/г) при 2 последовательных визитах с интервалом 8 недель. Участие пациентов, получавших дозу каждые 4 недели, но не достигшие целевых показателей, было прекращено. Представленные результаты представляют собой показатели с заменой недостающих значений данными об отсутствии ответа на лечение (NRI) и представлены только для пациентов, перешедших в фазу LTE (модифицированная RAS [mRAS]).

Из 440 пациентов, рандомизированных в группу T2T или SoC на 16-й неделе, 74 выбыли до 48-й недели. Из оставшихся 366 пациентов, завершивших 48 неделю, 43 прервали лечение и не начали LTE; из них 15 пациентов, принимавших препарат каждые 4 недели, прекратили прием препарата, поскольку целевые показатели не были достигнуты. На 48 неделе 323 пациента вошли в LTE (mRAS): 7,7% пациентов получали дозу каждые 4 недели, 48,6% — каждые 8 недель и 43,6% — каждые 12 недель. Эти пропорции составили 14,3%, 39,4% и 46,3%, соответственно, на 104-й неделе/раннее выбывание после исключения 8 пациентов, не получавших лечения. В общей сложности 20,1% пациентов прекратили лечение до завершения 104 недели. В целом, для 38,4% пациентов доза была повышена/снижена по крайней мере один раз во время LTE с аналогичной долей пациентов, получивших повышение дозы (22,9%) или снижение дозы (19,2%). Клинический ответ и ремиссия наблюдались у большей доли

пациентов, перешедших в LTE на 48-й неделе (92,6% и 83,9% соответственно), и оставались высокими на 104-й неделе (70,9% и 68,4% соответственно). В течение курса LTE пропорции пациентов с эндоскопическим ответом и ремиссией составляли 43,7% и 17,0% при включении в LTE по сравнению с 39,3% и 14,6% соответственно на 104-й неделе (таблица 4). Во время LTE никаких новых сигналов безопасности не наблюдалось.

Краткое описание

STARDUST — это первое рандомизированное исследование T2T, в котором эндоскопия проводилась на 16-й неделе для определения параметров увеличения дозы у пациентов с болезнью Крона. После 48 недель поддерживающей терапии с UST у большей доли пациентов был достигнут эндоскопический ответ в группе T2T по сравнению с группой SoC. T2T может быть дополнительным инструментом для врачей при выборе схемы дозирования UST. В целом, в обеих группах, принимавших UST, на 48 неделе были достигнуты высокие значения клинической ремиссии и ответов по биомаркерам на UST. Аналогичная доля пациентов (~20%) подверглась повышению/снижению дозы во время LTE в соответствии с установленными целевыми значениями; тем не менее, большинство пациентов завершили 104-ю неделю лечения устекинумабом в установленных инструкцией дозах. У большинства пациентов, вступивших в LTE и на 104-й неделе, наблюдался клинический ответ и ремиссия. Гибкое дозирование устекинумаба позволило сохранить пропорции пациентов с клиническим и эндоскопическим ответом и ремиссией во время LTE. Устекинумаб имел благоприятное соотношение пользы-риска на 104 неделе.

Цель

Чтобы проверить гипотезу, что стратегия поддерживающего лечения с UST, основанная на:

- ранней эндоскопии с последующими
- регулярными анализами биомаркеров (fCal, CRP) и клинических симптомов (CDAI) при
- последующей корректировке дозы для достижения цели

более успешна в достижении эндоскопического улучшения, чем прагматичная поддерживающая стратегия с анализом после 48 недель терапии с UST.

На ФИГ. 2 показан дизайн исследования и критерии корректировки дозы, основанные на результатах по CDAI, CRP и fCal. Для пациентов, у которых CRP не повышен на исходном уровне (т. е. $CRP \leq 2,87$ мг/л на неделе 0) при наличии активного

заболевания, CRP не считается целевым биомаркером для коррекции дозы, поэтому целью лечения этих пациентов будет достижение:

CDAI < 220 и улучшение показателя CDAI на ≥ 70 баллов по сравнению с BL (неделя 0)
И FCal ≤ 250 мкг/г.

5 В исследование были включены:

- Для зачисления в исследование подходили пациенты (возраст ≥ 18 лет) с болезнью Крона в активной стадии от умеренной до тяжелой степени (CDAI 220–450 и SES-CD ≥ 3), у которых традиционная терапия и/или один биологический препарат оказались неэффективными.

10 • Подходящие по критериям пациенты получали однократную дозу внутривенно, в зависимости от массы тела, UST ~ 6 мг/кг, а затем подкожно UST 90 мг на неделе 8.

- На 16-й неделе ответившие на лечение по CDAI 70 были рандомизированы в группу лечения T2T или SoC (соотношение 1:1).

15 • Ключевые конечные точки (условное исчисление NRI и LOCF), проанализированные на 8-й, 16-й и 48-й неделях

– Основная конечная точка

- Эндоскопический ответ (снижение по сравнению с исходным уровнем по шкале SES-CD $\geq 50\%$)

20 – Ключевые вторичные конечные точки

- Общая эндоскопическая ремиссия (балл по шкале SES-CD ≤ 2)
- Заживление слизистой оболочки (полное отсутствие изъязвлений слизистой в любом подвздошно-ободочном сегменте)
- Ответ по шкале CDAI 70 (улучшение общей оценки по CDAI на ≥ 70 пунктов по сравнению с исходным уровнем)
- Клинический ответ (снижение на ≥ 100 пунктов от исходного уровня общего балла по CDAI или общий балл < 150)
- Клиническая ремиссия (общий балл по CDAI < 150 пунктов)
- Изменение от исходного уровня биомаркеров (fCal и CRP)

30 Анализ данных выполняли следующим образом.

- FAS включал всех включенных в исследование пациентов, получивших хотя бы одну дозу UST.
- RAS включал всех пациентов, которые были рандомизированы на 16-й неделе (ответившие по CDAI 70).

- Для отсутствующих дихотомических и непрерывных переменных использовались замена недостающих значений данными об отсутствии ответа на лечение (NRI) и использование последнего документированного значения, перенесенного вперед (LOCF), соответственно. Анализ LOCF также был заранее запланированным анализом чувствительности для первичной конечной точки.
- Для дихотомических конечных точек для сравнения результатов между группами лечения используют критерий хи-квадрат Кохрана-Мантеля-Гензеля. р-значения (номинальные) основаны на результатах критерия Кохрана-Мантеля-Гензеля, двустороннем уровне α 0,05, стратифицированном по исходному показателю SES-CD (≤ 16 , > 16) и предшествующему воздействию биологических препаратов (отсутствие или 1)
- Непрерывные конечные точки будут сравниваться с помощью дисперсионного анализа (ANOVA) или ковариационного анализа (ANCOVA) с исходным значением и факторами стратификации в качестве ковариации. Если предположение о нормальности распределения вызывает сомнение, будет использоваться ANOVA или ANCOVA для критерия нормальных меток ван дер Вардена.
- Время до конечных точек события будет сравниваться между группами лечения с помощью стратифицированного лог-рангового критерия с предварительным учетом факторных биологических и исходных показателей по SES-CD (≤ 16 или > 16) в качестве факторов стратификации, если не указано иное.

Что касается распределения доз в группе T2T, то 59% принимали препарат каждые 12 недель на 16-й неделе и 41% — каждые 8 недель на 16-й неделе ($n = 206$). На 48 неделе в T2T 36% принимали каждые 12 недель, 27% — каждые 8 недель и 17% — каждые 4 недели (при этом 20% прекратили прием). Из пациентов, начавших лечение каждые 12 нед, 59,8% (73/122) продолжали лечение каждые 12 нед на 48-й неделе. Из пациентов, начавших лечение каждые 8 недель, 40,5% (34/84) продолжали лечение каждые 8 недель на неделе 48.

Что касается распределения доз в группе SoC, то 53% принимали препарат каждые 12 недель на 16-й неделе и 47% — каждые 8 недель на 16-й неделе ($n = 218$). На 48 неделе в SoC 35% принимали каждые 12 недель, 52% — каждые 8 недель (при этом 13% прекратили прием). Из пациентов, начавших лечение каждые 12 нед, 63,8% (74/116) продолжали лечение каждые 12 нед на 48-й неделе. Из пациентов, начавших лечение каждые 8 недель, 78,4% (80/102) продолжали лечение на неделе 48.

На Фигурах 5А, 5Б, 6А, 6Б и 7 показан эндоскопический ответ, измеренный с различными параметрами. Первичной конечной точкой является эндоскопический ответ (улучшение по SES-CD $\geq 50\%$) через 48 недель. Он был численно выше в группах T2T по сравнению с SoC (подстановка данных NRI) 37,7% против 29,9% $p = 0,09$.

5 Данные LOCF или NRI, которые включали только данные пациентов, прекративших исследование из-за неэффективности: значимость в пользу T2T по сравнению с группой SoC 40,0% против 30,8%, $p < 0,05$ для LOCF, 43,0% против 32,3%, $p = 0,036$ для NRI (включая только D/C неэффективности). Вторичными конечными точками (LOCF) являются среднее изменение по SES-CD на неделе 48 по сравнению с
10 исходным уровнем, % пациентов с улучшением по SES-CD на $\geq 25\%$, эндоскопической ремиссией и заживлением слизистой оболочки, аналогичными в группах T2T и SoC. Значимое изменение по SES-CD по сравнению с исходным уровнем было достигнуто на 16-й неделе для T2T и прогрессировало до 48-й недели.

На ФИГ. 8 и 9 показаны клинические конечные точки. Вторичные конечные
15 точки на неделе 48: среднее изменение по CDAI по сравнению с исходным уровнем было одинаковым в группах T2T и SoC; значимое изменение по сравнению с исходным уровнем, достигнутое на 8-й неделе, прогрессирующее до 48-й недели. Клинический ответ (ИЗМЕНЕНИЕ ≥ 100 или баллов по CDAI < 150), клиническая ремиссия (баллов по CDAI < 150) и ответ по CDAI 70 одинаковы в обеих группах исследования.

20 На ФИГ. 10А и 10Б показаны результаты анализов биомаркеров на неделе 48 для RAS NRI и RAS LOCF. Вторичные конечные точки: Среднее изменение показателей fCal и CRP по сравнению с исходным уровнем было одинаковым для групп T2T и SoC во всех временных точках. Значимое изменение по сравнению с исходным уровнем достигалось на 8-й неделе и прогрессировало до 48-й недели. Достижение
25 улучшения показателей fCal и CRP $\geq 50\%$ и нормализация уровней fCal и CRP, а также полный ответ по результатам анализа биомаркеров через 48 недель были одинаковыми в обеих группах исследования.

Таблица 1. Распределение пациентов на 48 неделе (RAS)

	Группа T2T (n = 220)	Группа SoC (n = 221)	RAS (n = 441)
Завершенная неделя 48*	174 (79,1%)	193 (87,3%)	367 (83,2%)
Участие преждевременно прекращено в первые 48 недель исследования	46 (20,9%)	28 (12,7%)	74 (16,8%)
Причины прекращения приема			
Эффективность	23 (10,5%)	11 (5,2%)	34 (7,7%)
Отсутствие эффективности	21 (9,5%)	8 (3,6%)	29 (6,6%)

	Группа T2T (n = 220)	Группа SoC (n = 221)	RAS (n = 441)
Рецидив заболевания	2 (0,9%)	1 (0,5%)	3 (0,7%)
Прогрессирующее заболевание	0	1 (0,5%)	1 (0,2%)
Получено сопутствующее лечение, запрещенное исследованием	0	1 (0,5%)	1 (0,2%)
Другие	23 (10,5%)	17 (7,8%)	40 (9,1%)
Прекращение участия субъектом	12 (5,5%)	4 (1,8%)	16 (3,6%)
Нежелательное явление	6 (2,7%)	10 (4,5%)	16 (3,6%)
Летальный исход	2 (0,9%)	0	2 (0,5%)
Невозможность последующего наблюдения	1 (0,5%)	0	1 (0,2%)
Решение врача	1 (0,5%)	2 (0,9%)	3 (0,7%)
Беременность	1 (0,5%)	1 (0,5%)	2 (0,5%)

К завершившим участие субъектам отнесены пациенты, чей визит преждевременного завершения состоялся в окно визита в течение недели 48. 75% и 86% в T2T и SoC соответственно завершили участие через 48 недель.

5 **Таблица 2 – Резюме демографических и исходных данных**

	Группа T2T (n = 220)	Группа SoC (n = 221)	RAS (n = 441)
Возраст, месяцы, среднее (CO)	38,2 (12,85)	36,3 (13,12)	37,3 (13,01)
Пол, n (%)			
Женщины	114 (51,8)	111 (50,2)	225 (51,0)
Мужчины	106 (48,2)	110 (49,8)	216 (49,0)
ИМТ, кг/м ² , среднее (CO)	23,93 (4,78)	23,75 (4,52)	23,84 (4,65)
Время от постановки диагноза до первого введения лекарственного средства, месяцев, среднее (CO)	118,92 (109,66)	107,79 (101,24)	113,34 (105,55)
Баллы по CDAI, среднее (CO)	287,2 (55,00)	287,2 (64,74)	287,2 (60,02)
Баллы по SES-CD, среднее (CO)	13,4 (8,83)	12,7 (7,52)	13,1 (8,20)
CRP, мг/л, среднее (CO)	16,41 (23,82)	15,84 (23,38)	16,12 (23,58)
FCal, мкг/г (CO)	1952,7 (3496,13)	1658,8 (2466,32)	1808,8 (3035,54)
Предшествующий прием биопрепаратов			
Ранее не получавшие биопрепаратов, n (%)	85 (38,6)	84 (38,0)	169 (38,3)
До участия в исследовании принимавшие 1 биологический препарат для лечения болезни Крона на исходном уровне, n (%) ^a	135 (61,4)	137 (62,0)	272 (61,7)

	Группа T2T (n = 220)	Группа SoC (n = 221)	RAS (n = 441)
Расположение очага заболевания, n, среднее (%)			
N	208	208	416
Повздошная кишка	54 (26,0)	54 (26,0)	108 (26,0)
Толстая кишка	72 (34,6)	83 (39,9)	155 (37,3)
Тонкая и толстая кишка	82 (39,4)	71 (34,1)	153 (36,8)
Пациенты, принимавшие ≥ 1 сопутствующего препарата, n (%)	215 (97,7)	213 (96,4)	428 (97,1)
Системные кортикостероиды, за исключением будесонида	37 (16,8)	33 (14,9)	70 (15,9)
Будесонид	29 (13,2)	24 (10,9)	53 (12,0)
Иммуносупрессивные препараты	58 (26,4)	52 (23,5)	110 (24,9)

Таблица 3. Резюме по безопасности на неделе 48

НЯ, n (%)	T2T (n = 220)	SoC (n = 221)	RAS (n = 441)
Любое НЯ	189 (85,9)	179 (81,0)	368 (83,4)
НЯ, связанные с исследуемым препаратом	48 (21,8)	54 (24,4)	102 (23,1)
Любой SAE	27 (12,3)	29 (13,1)	56 (12,7)
СНЯ, связанные с исследуемым препаратом	4 (1,8)	4 (1,8)	8 (1,8)
НЯ, приведшие к исключению из исследования	12 (5,5)	20 (9,0)	32 (7,3)
НЯ, приведшие к летальному исходу	2 (0,9)	0	2 (0,5)
Распространенные НЯ^c			
Инфекции и инвазии	102 (46,4)	95 (43,0)	197 (44,7)
Назофарингит	29 (13,2)	29 (13,1)	58 (13,2)
Заболевания желудочно- кишечного тракта	88 (40,0)	88 (39,8)	176 (39,9)
Боль в животе	23 (10,5)	19 (8,6)	42 (9,5)
Заболевания скелетно- мышечной и соединительнотканной систем	48 (21,8)	40 (18,1)	88 (20,0)
Артралгия	24 (10,9)	19 (8,6)	43 (9,8)
Заболевания нервной системы	35 (15,9)	31 (14,0)	66 (15,0)
Головная боль	24 (10,9)	21 (9,5)	45 (10,2)
Общие заболевания и реакции в месте введения	49 (22,3)	38 (17,2)	87 (19,7)
Заболевания кожи и подкожной ткани	33 (15,0)	28 (12,7)	61 (13,8)
Серьезное НЯ	27 (12,3)	29 (13,1)	56 (12,7)

НЯ, n (%)	T2T (n = 220)	SoC (n = 221)	RAS (n = 441)
Инфекции и инвазии	4 (1,8%)	12 (5,4%)	16 (3,6%)
НЯ, связанные с инфузией	4 (1,8%)	5 (2,3%)	9 (2,0%)
Реакции в месте инъекции	2 (0,9%)	2 (0,9%)	4 (0,9%)

НЯ классифицируется как связанное и исследуемым препаратом, если исследователь оценивает его как возможно, вероятно или очень вероятно связанное с исследуемым препаратом. НЯ, приведшие к летальному исходу, классифицируются таковыми на основе летального исхода НЯ. Причина смерти — неизвестная и сердечно-сосудистая (не подтвержденная аутопсией) — обе смерти не были связаны с исследуемым препаратом, по мнению исследователей. О нежелательных явлениях сообщали не менее 5% пациентов. НЯ, связанные с инфузией, относятся к событиям, которые произошли в течение 1 часа после инфузии.

10 **Таблица 4. Клинические результаты после недели 104**

Клинические результаты, mRAS (n = 323)	W48	W104	Результаты эндоскопического исследования, mRAS (n = 323)	W48	W104
Доля пациентов с клиническим ответом ^{a,b} %, (95% ДИ), n	92,6%, (89,1; 95,2), n = 299	70,9%, (65,6; 75,8), n = 229	Доля пациентов с эндоскопическим ответом ^{a,d} %, (95% ДИ), n	43,7%, (38,2; 49,3), n = 141	39,3%, (34,0; 44,9), n = 127
Доля пациентов с клинической ремиссией ^{a,c} %, (95% ДИ), n	83,9%, (79,4; 87,7), n = 271	68,4%, (63,0; 73,5), n = 221	Доля пациентов с эндоскопической ремиссией ^{a,c} %, (95% ДИ), n	17,0%, (13,1; 21,6), n = 55	14,6%, (10,9; 18,9), n = 47
Переменная, mRAS (n = 323)	W0	W8^e	W16	W48	W104
Баллы по CDAI ^f , среднее (CO), n	283,0 (58,2), n = 323	127,4 (84,6) n = 323	96,6 (64,8) n = 323	79,6 (66,5) n = 323	76,3 (72,4) n = 323
Уровни по SES-CD ^f , среднее (CO), n	12,4 (7,8) n = 323	Н/П	7,2 (6,1) n = 147	6,8 (6,2) n = 323	6,2 (5,8) n = 323

Группа mRAS включает всех пациентов, которые вошли в период LTE (с W48 по W104).

^aПациенты с отсутствующими данными были включены в анализ как не ответившие на лечение/не имеющие ремиссии (NRI). ^bОпределяется как снижение ≥ 100 баллов по сравнению с исходным баллом по CDAI или баллом CDAI < 150 . ^cОпределяется как общий балл по CDAI < 150 баллов. ^dОпределяется как снижение по сравнению с исходным уровнем по SES-CD на $\geq 50\%$. ^eОпределяется как SES-CD ≤ 2 . ^fУ пациентов, у которых отсутствовали данные в назначенный момент времени анализа, использовали последнее документированное значение (LOCF). ^gЭндоскопию не проводили для пациентов в W8.

CDAI (Crohn's Disease Activity Index) — индекс активности болезни Крона; LTE (long-term extension) — долгосрочная расширенная часть исследования; mRAS (modified Randomized Analysis Set) — модифицированная рандомизированная выборка, подлежащая анализу; Н/П — неприменимо; NRI — замена недостающих значений данными об отсутствии ответа на лечение; SES-CD (Simple Endoscopic Score for Crohn's Disease) — простой эндоскопический индекс активности болезни Крона; CO — среднее квадратичное отклонение; W — неделя.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

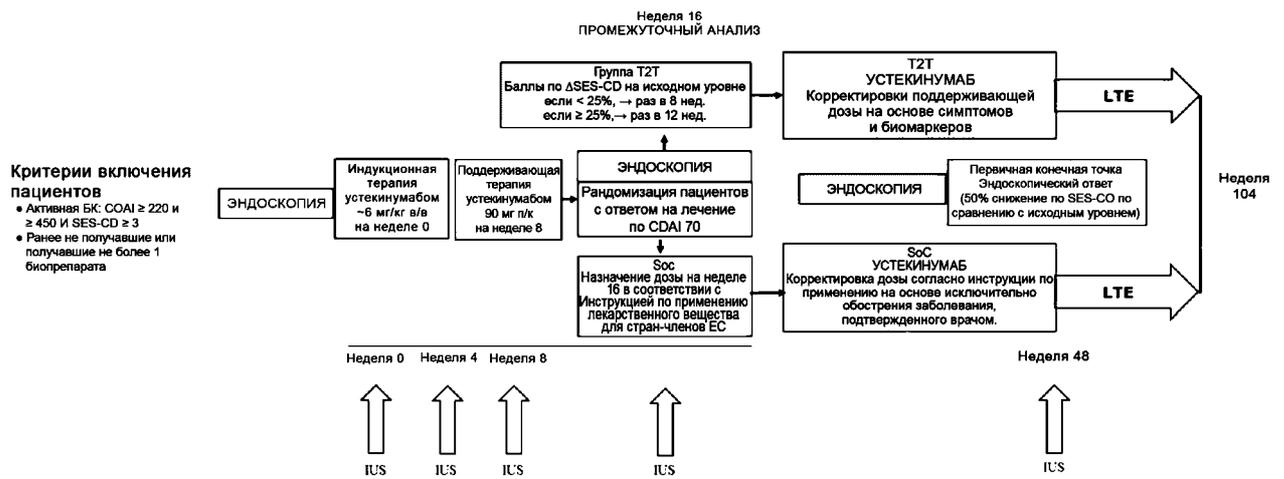
1. Способ лечения болезни Крона у нуждающегося в этом субъекта, включающий:
- 5 проведение эндоскопии у субъекта перед введением препарата для измерения простого эндоскопического индекса активности болезни Крона (SES-CD) и исходного CDAI;
- 10 введение субъекту фармацевтической композиции, содержащей клинически подтвержденное безопасное и клинически подтвержденное эффективное количество антитела к IL-12/IL-23p40, причем антитело содержит переменную область тяжелой цепи и переменную область легкой цепи, при этом переменная область тяжелой цепи содержит: аминокислотную последовательность определяющей комплементарности области тяжелой цепи 1 (CDRH1) SEQ ID NO:1; аминокислотную последовательность CDRH2 SEQ ID NO:2; и аминокислотную последовательность CDRH3 SEQ ID NO:3; а
- 15 переменная область легкой цепи содержит: аминокислотную последовательность определяющей комплементарности области легкой цепи 1 (CDRL1) SEQ ID NO:4; аминокислотную последовательность CDRL2 SEQ ID NO:5; и аминокислотную последовательность CDRL3 SEQ ID NO:6 в исходной дозе внутривенно в расчете на вес 6 мг антитела на кг веса субъекта и
- 20 подкожной дозе 90 мг антитела через 8 недель после введения начальной дозы;
- измерение (i) связанных с болезнью Крона биомаркеров, выбранных между уровнем С-реактивного белка (CRP) и/или фекального кальпротектина (Fcal), и/или (ii) клинических симптомов, выбранных между CDAI и SES-CD субъекта через 16 недель после введения начальной дозы;
- 25 введение (iii) 90 мг антитела подкожно через 16 недель после введения начальной дозы и каждые четыре недели после подкожного введения через 16 недель субъектам, у которых оценка по CDAI < 220 , улучшение по CDAI менее чем на 70 баллов по сравнению с исходным уровнем, CRP ≤ 10 мг/л и/или Fcal ≤ 250 мкг/г, или (iv) 90 мг антител подкожно через 16 недель после
- 30 введения начальной дозы и каждые восемь недель после подкожного введения через 16 недель у субъектов, у которых состояние по SES-CD улучшилось менее чем на 25% по сравнению с исходной оценкой по SES-CD; и

измерение (i) связанных с болезнью Крона биомаркеров, выбранных из уровня С-реактивного белка (CRP) и/или фекального кальпротектина (Fcal), и/или (ii) клинических симптомов, выбранных из CDAI и SES-CD субъекта через 48 недель/104 недели после введения начальной дозы.

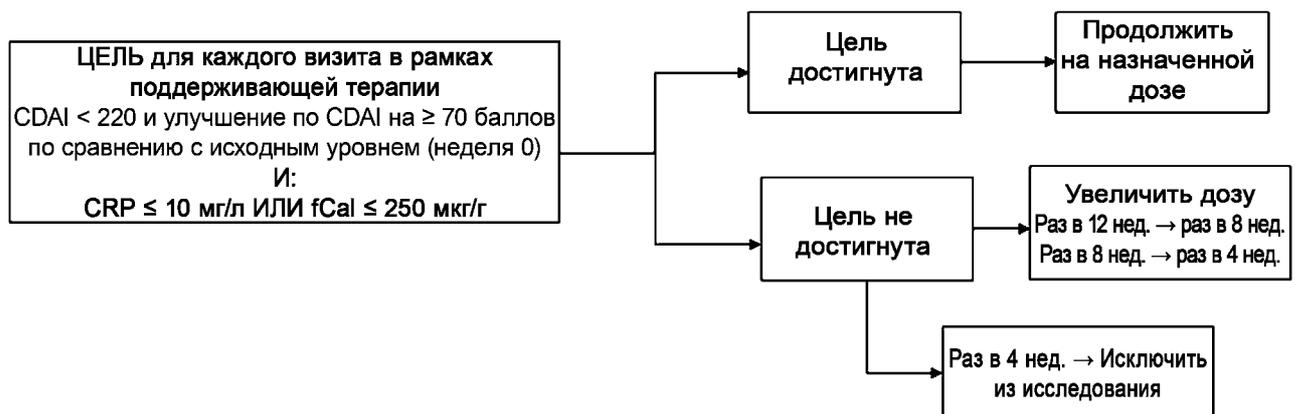
- 5
2. Способ по п. 1, отличающийся тем, что измерение через 16 недель после первого введения начальной дозы проводят с помощью эндоскопии.
- 10
3. Способ по п. 1, отличающийся тем, что измерение через 16 недель после первоначального введения проводят с помощью УЗИ кишечника.
- 15
4. Способ по п. 1, отличающийся тем, что у получающего лечение субъекта достигается эндоскопическое улучшение и по меньшей мере 50% снижение по SES-CD по сравнению с исходным уровнем SES-CD через 48 недель после введения начальной дозы и/или через 104 недели после введения начальной дозы.
- 20
5. Способ по п. 1, отличающийся тем, что у получающего лечение субъекта достигается общая эндоскопическая ремиссия (оценка по SES-CD ≤ 2), заживление слизистой оболочки, улучшение по CDAI на ≥ 70 по сравнению с исходным показателем по CDAI, клинический ответ со снижением ≥ 100 по сравнению с исходным показателем по CDAI, общий балл CDAI < 150 и/или изменение показателей fCal и CRP по сравнению с исходным уровнем.
- 25
6. Способ по п. 1, в котором антитело содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:7 вариабельной области тяжелой цепи и аминокислотную последовательность SEQ ID NO:8 вариабельной области легкой цепи.
- 30
7. Способ по п. 1, отличающийся тем, что указанное антитело содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:10 тяжелой цепи и аминокислотную последовательность SEQ ID NO:11 легкой цепи.

8. Способ по п. 1, отличающийся тем, что субъект имеет активную болезнь Крона от умеренной до тяжелой степени с оценкой по шкале CDAI от 220 до 450 или простой эндоскопический индекс SES-CD ≥ 3 .
- 5 9. Способ по п. 1, отличающийся тем, что измерение через 48 недель после первоначального введения проводят с помощью эндоскопии.
10. Способ по п. 9, отличающийся тем, что субъект находится в клинической ремиссии через 48 недель после первоначального введения.
- 10 11. Способ по п. 9, отличающийся тем, что субъект находится в клинической ремиссии через 104 недели после первоначального введения.
- 15 12. Способ по п. 1, в котором ранее по меньшей мере одна терапия, выбранная из группы, состоящей из антител против ФНО, ведолизумаба, кортикостероидов, азатиоприна (AZA) и 6-меркаптопурина (6 МР), оказалась неэффективной или непереносимой для субъекта, или у субъекта проявилась кортикостероидная зависимость.
- 20 13. Способ по п. 1, отличающийся тем, что фармацевтическая композиция для внутривенного введения содержит раствор, содержащий дополнительно 10 мМ L-гистидина, 8,5% (масс./об.) сахарозы, 0,04% (масс./об.) полисорбата 80, 0,4 мг/мл L-метионина и 20 мкг/мл дегидрата динатриевой соли ЭДТА, pH 6,0.
- 25 14. Способ по п. 1, в котором фармацевтическая композиция для подкожного введения дополнительно содержит раствор, содержащий 6,7 мМ L-гистидина, 7,6% (масс./об.) сахарозы, 0,004% (масс./об.) полисорбата 80, pH 6,0.

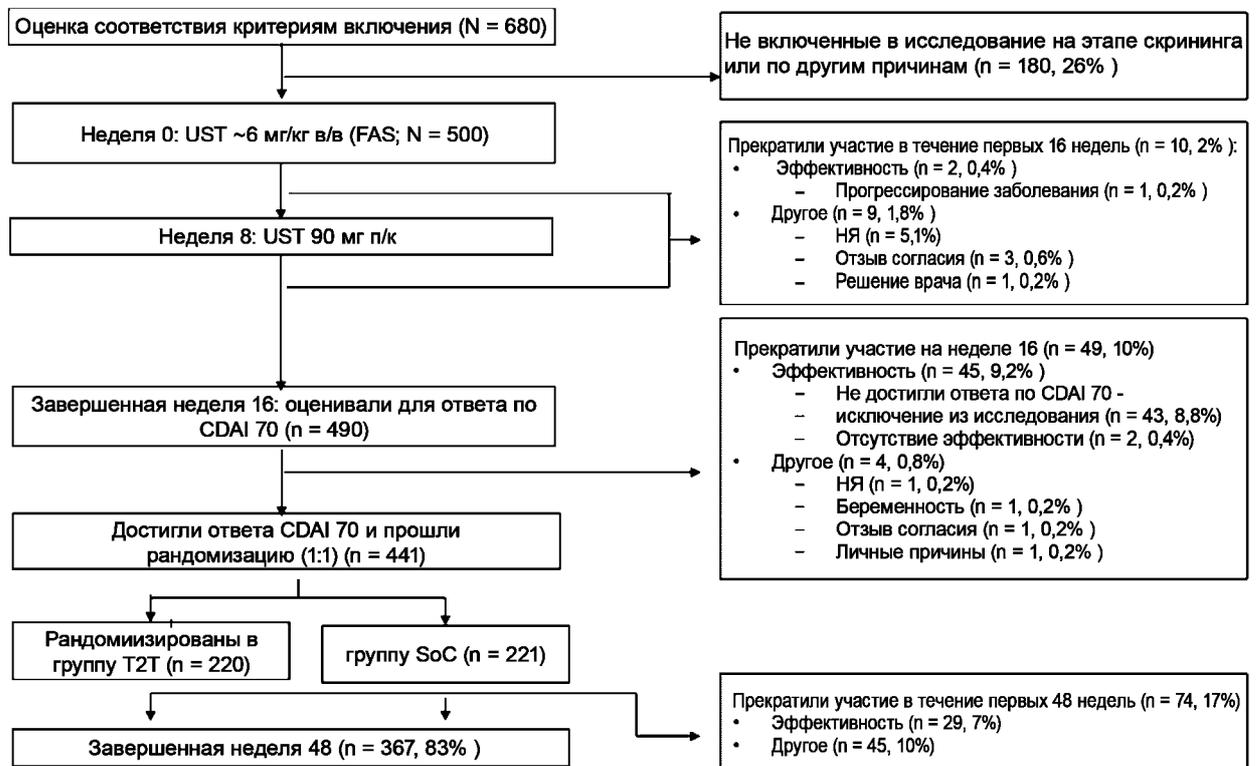
ФИГ. 1



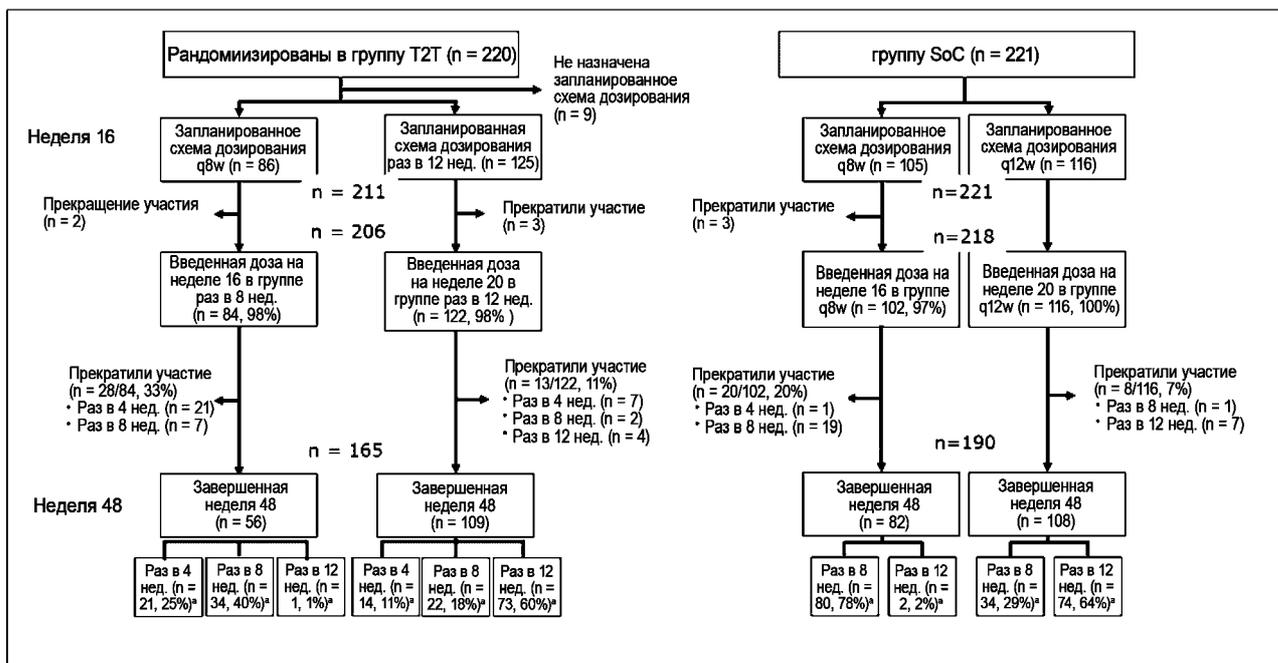
ФИГ. 2



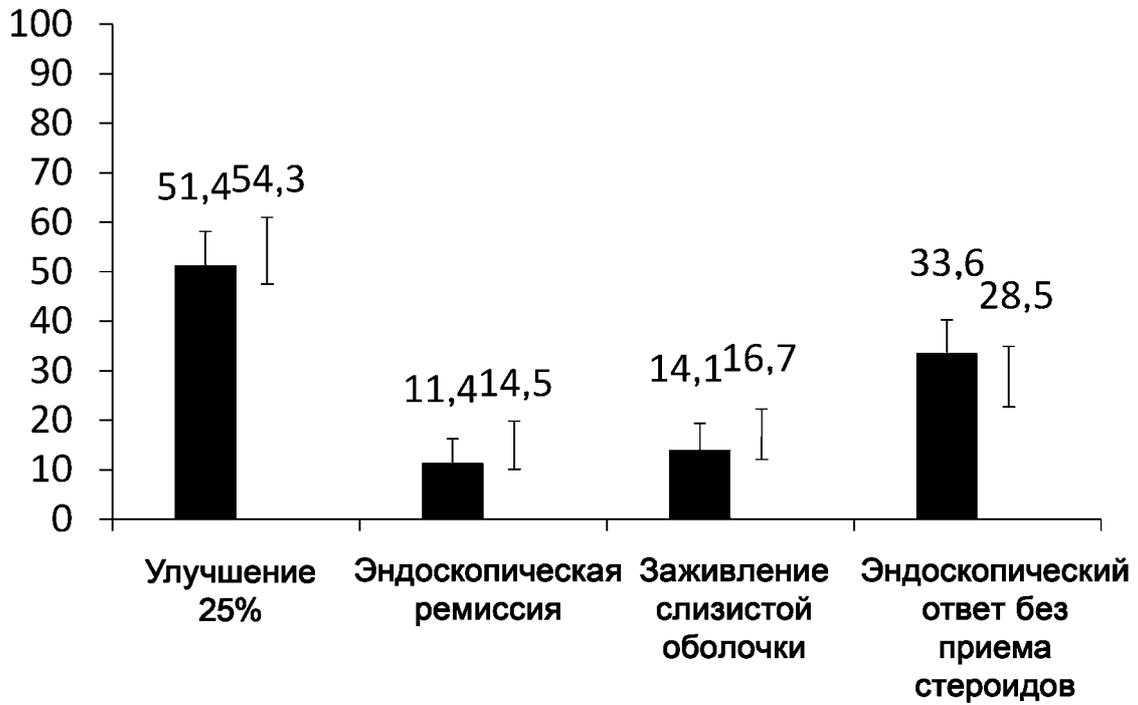
ФИГ. 3



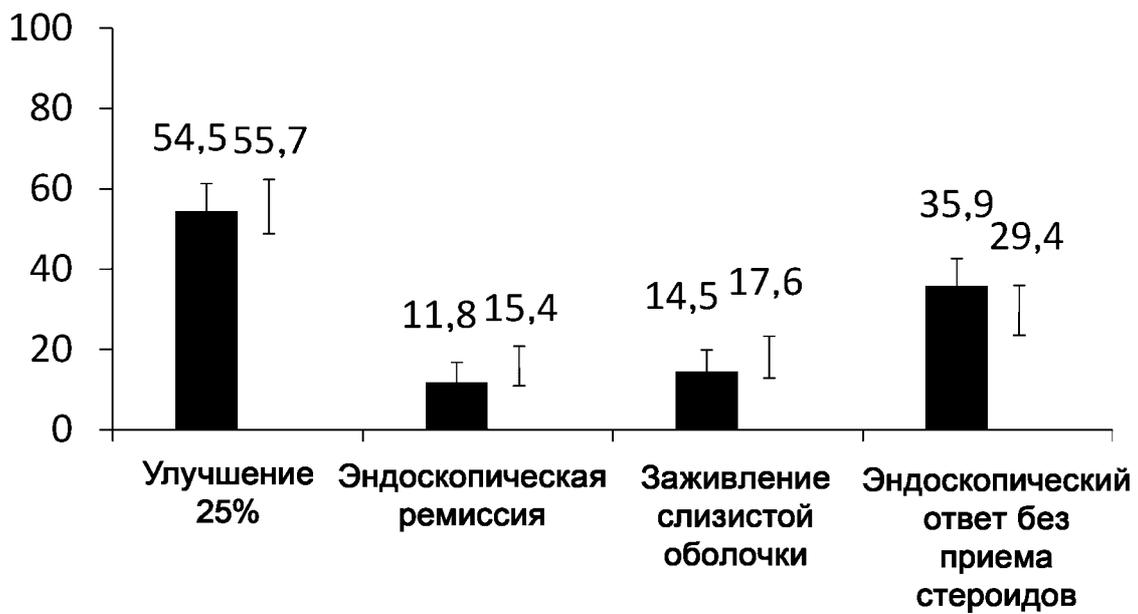
ФИГ. 4



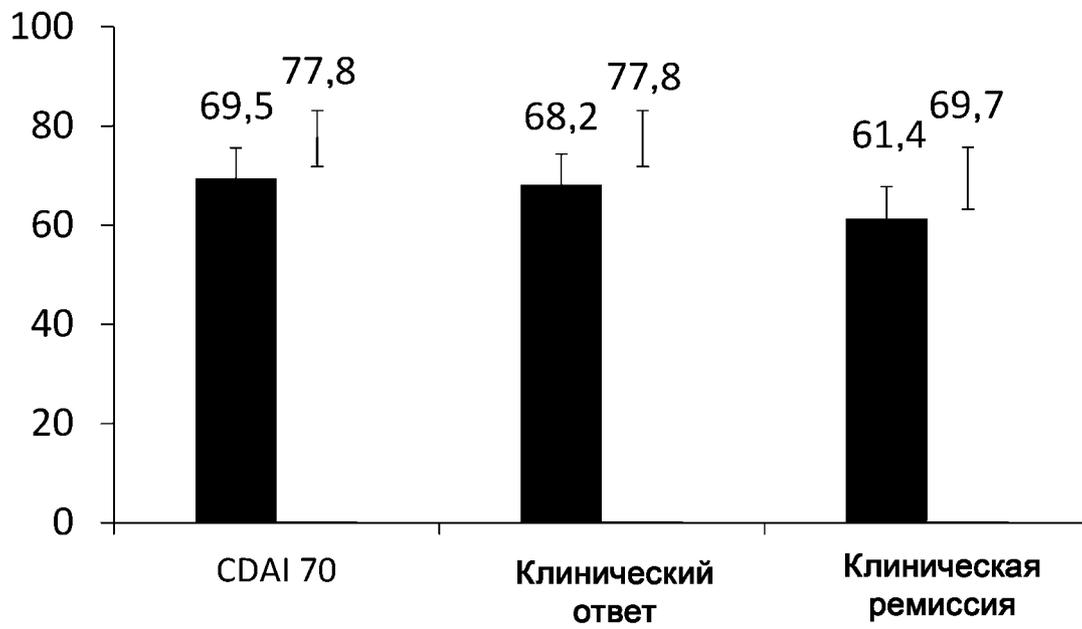
ФИГ. 5А



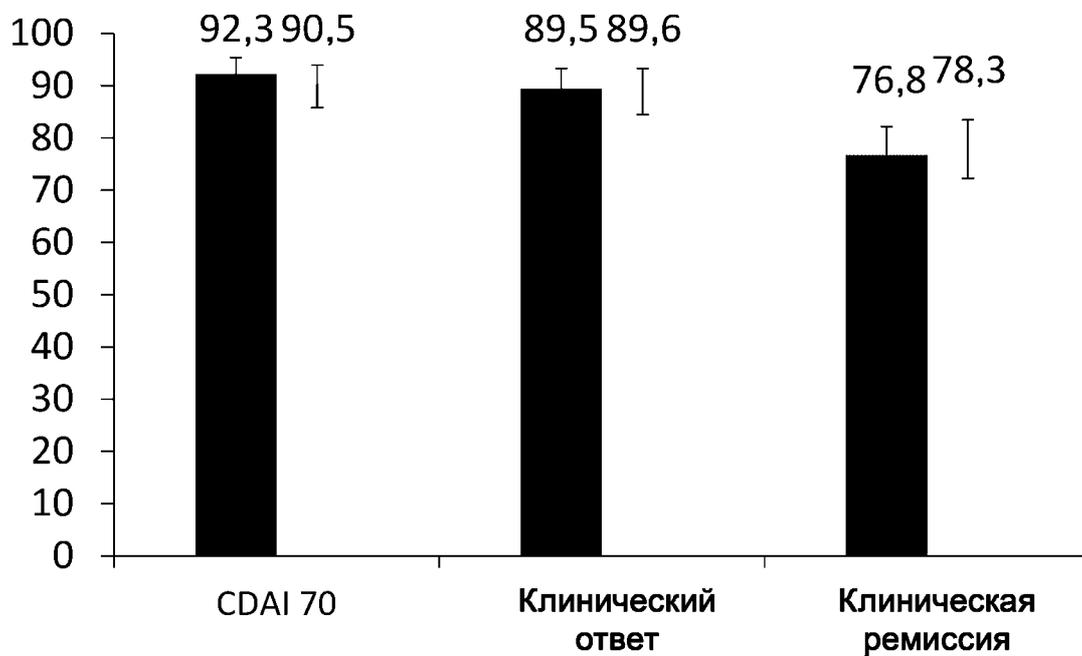
ФИГ. 5Б



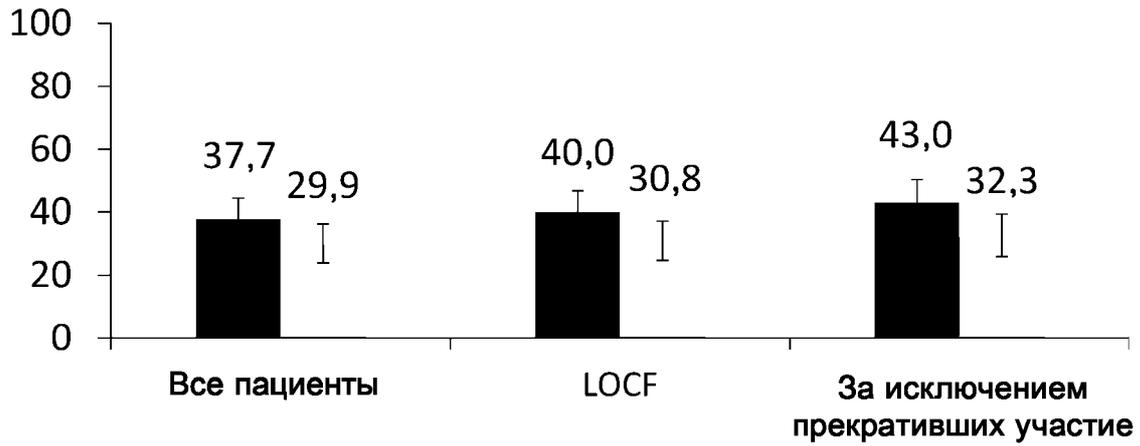
ФИГ. 6А



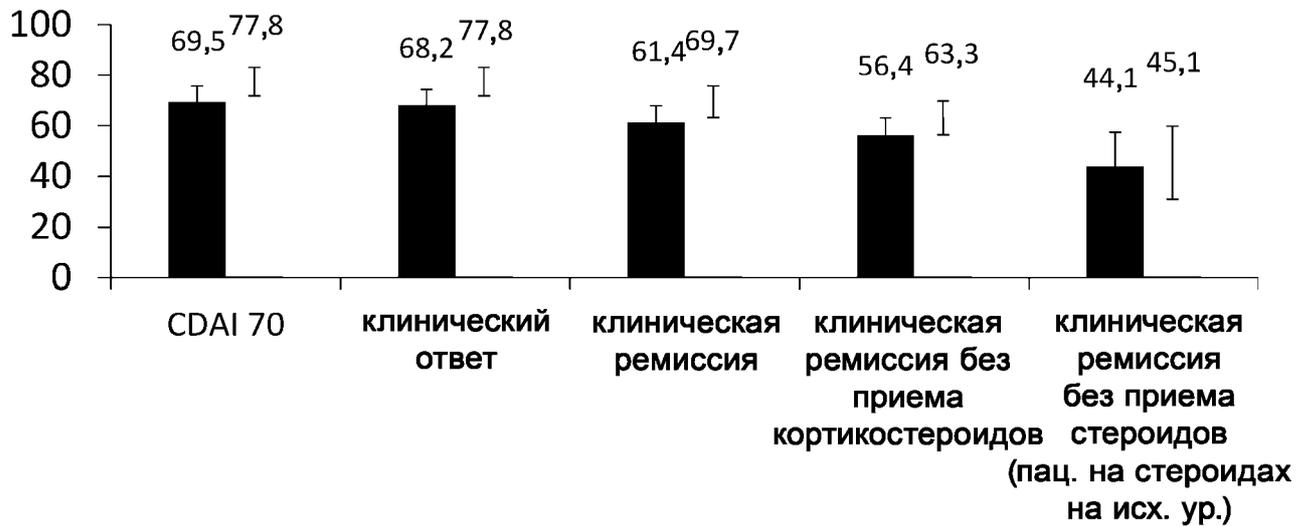
ФИГ. 6Б



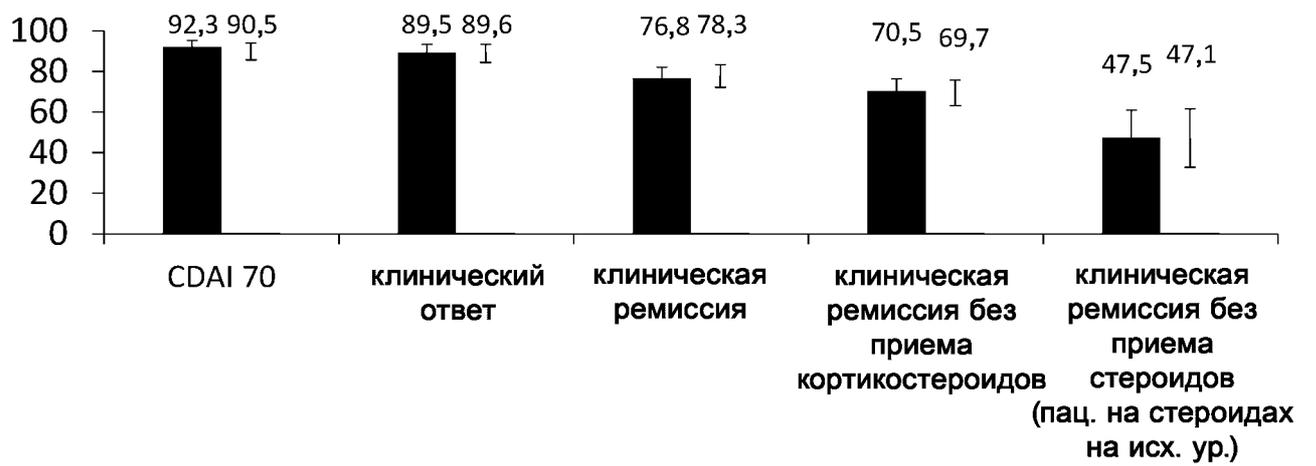
ФИГ. 7



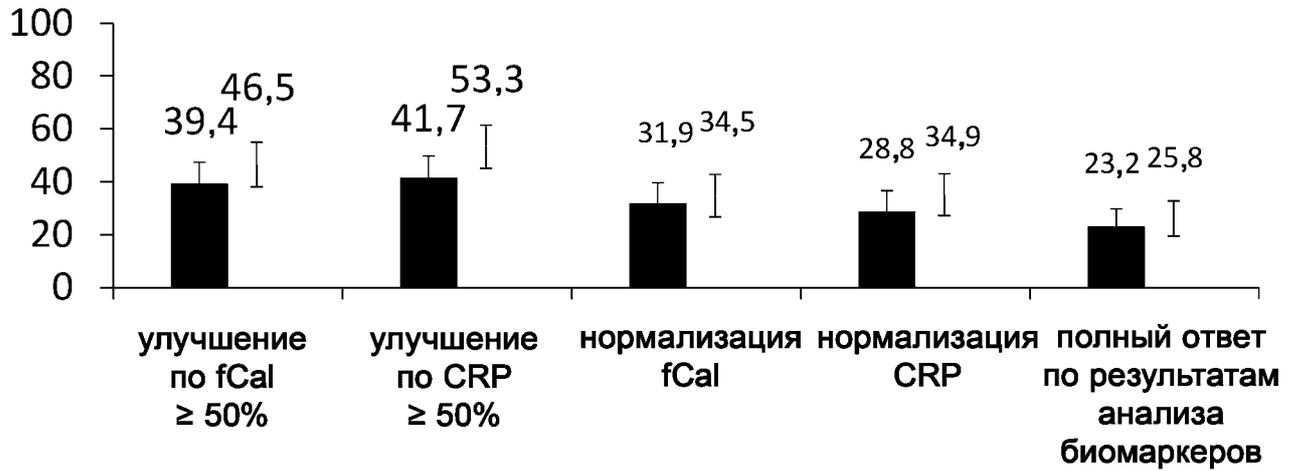
ФИГ. 8



ФИГ. 9



ФИГ. 10А



ФИГ. 10Б

