

(19)



Евразийское  
патентное  
ведомство

(21) 202392488 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки  
2023.12.13

(51) Int. Cl. *A61K 39/395* (2006.01)  
*A61P 21/04* (2006.01)  
*C07K 16/28* (2006.01)  
*C12N 15/13* (2006.01)

(22) Дата подачи заявки  
2022.03.11

(54) ФАРМАЦЕВТИЧЕСКАЯ КОМПОЗИЦИЯ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ИЛИ ПРОФИЛАКТИКИ ТЯЖЕЛОЙ МИАСТЕНИИ

(31) 2021-040206

(72) Изобретатель:

(32) 2021.03.12

Одзава Такатоси, Чжоу Маньди, Ито Хадзиме, Ёсида Шунсукэ (JP), Смит Джиллиан, Леннон-Краймз Шиан (GB), Крумова Петранка, Зильбер Бауман Ханна (CN)

(33) JP

(86) PCT/JP2022/010791

(87) WO 2022/191306 2022.09.15

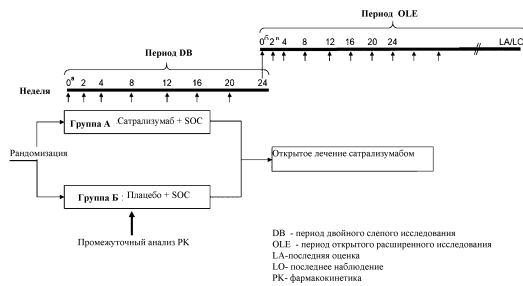
(71) Заявитель:

ЧУГАИ СЕЙЯКУ КАБУСИКИ  
КАЙСЯ (JP); Ф. ХОФМАНН-ЛЯ  
РОШ АГ (CN)

(74) Представитель:

Веселицкий М.Б., Кузенкова Н.В.,  
Каксис Р.А., Белоусов Ю.В., Куликов  
А.В., Кузнецова Е.В., Соколов Р.А.,  
Кузнецова Т.В. (RU)

(57) Изобретение относится к фармацевтическим композициям для лечения или профилактики тяжелой миастении, включающим сатрализумаб в качестве активного ингредиента.



202392488  
A1

202392488  
A1

## ФАРМАЦЕВТИЧЕСКАЯ КОМПОЗИЦИЯ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ИЛИ ПРОФИЛАКТИКИ ТЯЖЕЛОЙ МИАСТЕНИИ

### Область техники

Настоящее изобретение относится к фармацевтическим композициям для применения при лечении или для профилактики тяжелой миастении.

### Предшествующий уровень

Тяжелая миастения (MG) - аутоиммунное заболевание, при котором рецепторы на мышечной стороне нервно-мышечных соединений разрушаются аутоантителами. В настоящее время не существует терапии для полного излечения этого заболевания, а в Японии оно отнесено к категории трудноизлечимых заболеваний (NPL1). Существующие методы лечения генерализованных тяжелых миастений (генерализованных MG, (gMG)) основаны на применении лекарственных средств (NPL1).

Лекарственные средства, используемые в настоящее время для длительного лечения MG, такие как стероиды и иммунодепрессанты, могут вызывать различные побочные эффекты, включая ухудшение внешнего вида, остеопороз, нарушение толерантности к глюкозе, диарею, мышечные спазмы и инфекции. Кроме того, поскольку многие из существующих лекарственных средств не проходили рандомизированные контролируемые исследования для проверки их эффективности у пациентов с MG, их доказательная база ограничена. При внутривенной иммуноглобулинотерапии (ВВИГ (IVIg)) и терапии очисткой крови/заместительной терапии их эффекты носят временный характер, и поэтому для долгосрочного контроля симптомов требуется регулярное лечение, включая госпитализацию, что может стать огромным физическим, психическим и экономическим бременем для пациентов. Следовательно, существует высокая неудовлетворенная потребность в лечении или профилактике MG.

С недавнего времени биологический агент экулизумаб (eculizumab) стал покрываться страховкой для пациентов с генерализованным MG с наличием антител к ацетилхолиновым рецепторам (AChR) только в тех случаях, когда симптомы трудно контролировать при использовании ВВИГ или терапии очисткой крови. Однако он активно не назначался, поскольку в настоящее время он не показан при MG с наличием антител к специфической мышечной

тирозинкиназе (MuSK), MG с наличием антител к белку 4, связанному с рецепторами липопротеинов низкой плотности (ЛПНП) (Lrp4), или MG с отсутствием аутоантител, помимо этого требуется вакцинация для предотвращения менингококковой инфекции, и является очень дорогостоящим.

Соответственно, как в Японии, так и за ее пределами существует потребность в новом методе лечения или профилактики с установленной эффективностью и безопасностью MG.

В исследованиях MG наблюдались повышенные уровни IL-6 в крови и мышечных тканях доклинических моделей на животных и у пациентов с MG, и было показано, что введение антител против IL-6 терапевтически эффективно у MG крыс (NPL2-NPL8), что предполагает возможное вовлечение IL-6 в патологический механизм MG. Также было показано, что тоцилизумаб (tocilizumab) - блокатор передачи сигналов IL-6, эффективен у двух пациентов с умеренной и тяжелой степенью MG с наличием AChR и недостаточным ответом на ритуксимаб (rituximab) (NPL2). Более того, также было показано, что антагонисты IL-6 полезны для лечения иммунных нарушений (PTL 1). Таким образом, ингибирование передачи сигналов IL-6 может служить терапевтическим вариантом для пациентов с MG.

Гуманизированные антитела, такие как тоцилизумаб, являются препаратами-антителами первого поколения. Совершенствуются препараты с антителами первого поколения, разрабатываются препараты с антителами второго поколения, обладающие повышенной эффективностью, удобством и более приемлемой стоимостью. К препаратам с антителами второго поколения относится сатрализумаб (satralizumab) (SA237), который является новым антителом к рецептору IL-6, к которому были применены технологии улучшения, такие как повышение антигенсвязывающей способности, фармакокинетики и стабильности, а также снижение риска иммуногенности (PTL2 и PTL3).

Сатрализумаб представляет рН-зависимое гуманизированное моноклональное антитело, связывающееся с рецептором IL-6. Он специфически нацелен на рецептор IL-6 человека (IL-6R) и подавляет передачу сигналов IL-6 путем ингибирования связывания IL-6 с мембраносвязанным IL-6R и растворимым IL-6R. Сатрализумаб был сконструирован путем модификации аминокислотной последовательности тоцилизумаба для пролонгации периода

его полувыведения из плазмы крови. Сатрализумаб также обладает pH-зависимыми характеристиками связывания со своим антигеном - IL-6R, и демонстрирует пониженную изоэлектрическую точку молекулы антитела и более сильное связывание с FcRn. Более того, его Fc-область была модифицирована для минимизации антителозависимой клеточной цитотоксичности и комплементзависимой цитотоксической эффекторной активности.

Ниже приведена информация по литературе по известному уровню техники, относящемуся к настоящей заявке на патент.

#### Список цитирования

##### Непатентная литература

[NPL1] Practical Guideline for Myasthenia Gravis (MG) 2014 (editorial supervisor: Societas Neurologica Japonica), Nankodo Co., Ltd.

[NPL2] D I Jonsson, *et al.*, Beneficial effect of tocilizumab in myasthenia gravis refractory to rituximab. *Neuromuscular Disorders* 27 (2017) 565-568

[NPL3] Deng C, Goluszko E, Tuzun E, *et al.*, Resistance to experimental autoimmune myasthenia gravis in IL-6-deficient mice is associated with reduced germinal center formation and C3 production. *J Immunol.* 2002;169(2):1077-83.

[NPL4] Hu Y, Wang J, Rao J, *et al.*, Comparison of peripheral blood B cell subset ratios and B cell-related cytokine levels between ocular and generalized myasthenia gravis. *International Immunopharmacology* 2020;80:106130.

[NPL5] Zhang CJ, *et al.*, Augmentation of Circulating Follicular Helper T Cells and Their Impact on Autoreactive B Cells in Myasthenia Gravis. *J Immunol.* 2016 Oct 1;197(7):2610-7.

[NPL6] Mocchegiani E, *et al.*, Different age-related effects of thymectomy in myasthenia gravis: role of thymoma, zinc, thymulin, IL-2 and IL-6. *Mech Ageing Dev.* 2000 Aug 15;117(1-3):79-91.

[NPL7] Maurer, M., Bougoin, S., Feferman, T. *et al.*, IL-6 and Akt are involved in muscular pathogenesis in myasthenia gravis. *acta neuropathol commun* 3, 1 (2015).

[NPL8] Miriam C. Souroujon *et al.*, Regulatory T cell-based immunotherapies in experimental autoimmune myasthenia gravis. *Annals of the New York Academy of Science*, 2012 1274 120-126.

Патентная литература

[PTL1] WO2005/028514

[PTL2] WO2010/035769

[PTL3] WO2016/136933

Краткое описаниеТехническая проблема

Сатрализумаб обладает механизмом действия, отличным от механизма действия существующих лекарственных средств для МГ . В частности, сатрализумаб специфически нацелен на человеческий IL-6R и подавляет передачу сигналов IL-6, блокируя связывание IL-6 с мембраносвязанным и растворимым IL-6R (sIL-6R). Ожидается, что это будет новый возможный метод лечения МГ .

Настоящее изобретение было создано с учетом этих обстоятельств. Целью настоящего изобретения является применение сатрализумаба, который является антителом к рецептору IL-6, в качестве лекарственного средства второго поколения, к которому были применены технологии улучшения, такие как повышение антигенсвязывающей способности, фармакокинетики и стабильности, а также снижение риска иммуногенности, и который также является антителом с механизмом действия, отличным от механизма действия существующих лекарственных средств, т.е. подавляющих передачу сигналов IL-6, для лечения или профилактики МГ .

Решение проблемы

Для решения выше указанной проблемы авторы настоящего изобретения сосредоточились на действии лекарственного средства-антитела второго поколения сатрализумаба на подавлении передачи сигналов IL-6 и обнаружили, что его можно использовать для лечения МГ , следовательно, решая поставленную задачу.

В частности настоящее изобретение включает следующее:

[1]

Фармацевтическая композиция для лечения или профилактики пациента с тяжелой миастенией, включающая в качестве активного ингредиента:

(I) антитело, включающее тяжелую цепь CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 5, тяжелую цепь CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 6, тяжелую цепь

CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 7, легкую цепь CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 8, легкую цепь CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 9, и легкую цепь CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 10;

(II) антитело, включающее вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 2; или

(III) антитело, включающее тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 3, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 4,

где пациент представляет пациента с наличием антител к ацетилхолиновым рецепторам (AChR), с наличием антител к специфической мышечной тирозинкиназе (MuSK), или с наличием антител к белку 4, связанному с рецепторами липопротеинов низкой плотности (ЛПНП) (Lrp4).

[2]

Фармацевтическая композиция по [1], где антитело представляет сатрализумаб.

[3]

Фармацевтическая композиция по [1] или [2], где пациент с тяжелой миастенией представляет пациента с наличием антител к MuSK или с наличием антител к Lrp4.

[4]

Фармацевтическая композиция по любому из [1] - [3], где пациент с тяжелой миастенией представляет пациента с диагностированной тяжелой миастенией, проявляющей генерализованную мышечную слабость, которая подпадает под II, III или IV класс клинической классификации Американского фонда тяжелой миастении (Myasthenia Gravis Foundation of America) (MGFA).

[5]

Фармацевтическая композиция по любому из [1] - [3], где пациент с тяжелой миастенией представляет пациента с общей оценкой по шкале повседневной активности MG (MG-ADL), равной 5 или выше, и при которой половина или более баллов связаны с неглазными симптомами.

[6]

Фармацевтическая композиция по любому из [1] - [3], где тяжелая миастения представляет генерализованную тяжелую миастению.

[7]

Фармацевтическая композиция по любому из [1] - [3], которая снижает оценку MG-ADL.

[8]

Фармацевтическая композиция по любому из [1] - [3], которая снижает оценку по шкале количественной оценки тяжести клинических проявлений миастении (QMG), по 15-бальной шкале оценки качества жизни при тяжелой миастении (MG ) (пересмотренная) (MG-QOL 15r), краткой формы оценки качества жизни, уровня утомляемости у лиц с неврологическими расстройствами (Neuro-QOL Fatigue) или комплексную оценку при тяжелой миастении (MGC).

[9]

Фармацевтическая композиция по любому из [1] - [8], где доза антитела для пациента с массой тела 100 кг или менее составляет 120 мг /введение, а доза антитела для пациента с массой тела более 100 кг составляет 180 мг/введение.

[10]

Фармацевтическая композиция по любому из [1] - [8], где доза антитела для пациента с массой тела 100 кг или менее составляет 120 мг /введение, а доза антитела для пациента с массой тела более чем 100 кг составляет 240 мг /введение.

[11]

Фармацевтическая композиция по любому из [1] - [8], где доза антитела для пациента с массой тела 100 кг или менее составляет 180 мг /введение, а доза антитела для пациента с массой тела более чем 100 кг составляет 240 мг /введение.

[12]

Фармацевтическая композиция по любому из [1] - [11], где композицию вводят со стандартным интервалом приема после периода с коротким интервалом приема, во время которого композицию вводят в той же самой дозировке, что и стандартную дозу при многократном введении в интервале приема, который короче стандартного интервала приема.

[13]

Агент для лечения или профилактики пациента с тяжелой миастенией, включающий в качестве активного ингредиента антитело, включающее следующее, где пациент представляет пациента с наличием антител к ацетилхолиновым рецепторам (AChR), с наличием антител к специфической мышечной тирозинкиназе (MuSK), или с наличием антител к белку 4, связанному с рецепторами липопротеинов низкой плотности (ЛПНП) (Lrp4):

(I) антитело, включающее тяжелую цепь CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 5, тяжелую цепь CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 6, тяжелую цепь CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 7, легкую цепь CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 8, легкую цепь CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 9, и легкую цепь CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 10;

(II) антитело, включающее вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 2; или

(III) антитело, включающее тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 3, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 4.

[14]

Агент по [13], где пациент с тяжелой миастенией представляет пациента с диагностированной тяжелой миастенией, проявляющей генерализованную мышечную слабость, которая подпадает под II, III или IV класс клинической классификации Американского фонда тяжелой миастении (Myasthenia Gravis Foundation of America) (MGFA).

[15]

Агент по [13] или [14], где доза антитела для пациента с массой тела 100 кг или менее составляет 120 мг /введение, и доза антитела для пациента с массой тела более чем 100 кг составляет 180 мг /введение.



[16]

Агент по [13] или [14], где доза антитела для пациента с массой тела 100 кг или менее составляет 120 мг /введение, и доза антитела для пациента с массой тела более чем 100 кг составляет 240 мг /введение.

[17]

Агент по [13] или [14], где доза антитела для пациента с массой тела 100 кг или менее составляет 180 мг /введение, и доза антитела для пациента с массой тела более чем 100 кг составляет 240 мг /введение.

[18]

Способ лечения или профилактики тяжелой миастении, включающий введение антитела, содержащего следующее, нуждающемуся в этом пациенту, где пациент представляет пациента с наличием антител к ацетилхолиновым рецепторам (AChR), с наличием антител к специфической мышечной тирозинкиназе (MuSK) или с наличием антител к белку 4, связанному с рецепторами липопротеинов низкой плотности (ЛПНП) (Lrp4):

(I) антитело, включающее тяжелую цепь CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 5, тяжелую цепь CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 6, тяжелую цепь CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 7, легкую цепь CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 8, легкую цепь CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 9, и легкую цепь CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 10;

(II) антитело, включающее вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 2; или

(III) антитело, включающее тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 3, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 4.

[19]

Способ по [18], где пациент с тяжелой миастенией представляет пациента с диагностированной тяжелой миастенией, проявляющей генерализованную мышечную слабость, которая подпадает под II, III или IV класс клинической

классификации Американского фонда тяжелой миастении (Myasthenia Gravis Foundation of America) (MGFA).

[20]

Способ по [18] или [19], где доза антитела для пациента с массой тела 100 кг или менее составляет 120 мг /введение, и доза антитела для пациента с массой тела более чем 100 кг составляет 180 мг /введение.

[21]

Способ по [18] или [19], где доза антитела для пациента с массой тела 100 кг или менее составляет 120 мг/введение, и доза антитела для пациента с массой тела более чем 100 кг составляет 240 мг /введение.

[22]

Способ по [18] или [19], где доза антитела для пациента с массой тела 100 кг или менее составляет 180 мг /введение, и доза антитела для пациента с массой тела более чем 100 кг составляет 240 мг /введение.

[23]

Применение антитела, включающего следующее, для получения агента для лечения или профилактики тяжелой миастении, где пациент представляет пациента с наличием антител к ацетилхолиновым рецепторам (AChR),

(III) антитело, включающее тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 3, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 4.с наличием антител к специфической мышечной тирозинкиназе (MuSK) или с наличием антител к белку 4, связанному с рецепторами липопротеинов низкой плотности (ЛПНП) (Lrp4):

(I) антитело, включающее тяжелую цепь CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 5, тяжелую цепь CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 6, тяжелую цепь CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 7, легкую цепь CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 8, легкую цепь CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 9, и легкую цепь CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 10;

(II) антитело, включающее переменную область тяжелой, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1, и переменную область

легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 2; или

(III) антитело, включающее тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 3 и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 4.

[24]

Применение по [23], где пациент с тяжелой миастенией представляет пациента с диагностированной тяжелой миастенией, проявляющей генерализованную мышечную слабость, которая подпадает под II, III или IV класс клинической классификации Американского фонда тяжелой миастении (Myasthenia Gravis Foundation of America) (MGFA).

[25]

Применение по [23] или [24], где доза антитела для пациента с массой тела 100 кг или менее составляет 120 мг /введение, и доза антитела для пациента с массой тела более чем 100 кг составляет 180 мг /введение.

[26]

Применение по [23] или [24], где доза антитела для пациента с массой тела 100 кг или менее составляет 120 мг /введение, и доза антитела для пациента с массой тела более чем 100 кг составляет 240 мг /введение.

[27]

Применение по [23] или [24], где доза антитела для пациента с массой тела 100 кг или менее составляет 180 мг /введение, и доза антитела для пациента с массой тела более чем 100 кг составляет 240 мг /введение.

[28]

Антитело для применения при лечении или профилактике пациента с тяжелой миастенией, где антитело включает следующее, и где пациент представляет пациента с наличием антител к ацетилхолиновым рецепторам (AChR), с наличием антител к специфической мышечной тирозинкиназе (MuSK) или с наличием антител к белку 4, связанному с рецепторами липопротеинов низкой плотности (ЛПНП) (Lrp4):

(I) антитело, включающее тяжелую цепь CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 5, тяжелую цепь CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 6, тяжелую цепь CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 7, легкую

цепь CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 8, легкую цепь CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 9, и легкую цепь CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 10;

(II) антитело, включающее вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 2; или

(III) антитело, включающее тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 3, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 4.

[29]

Антитело по [28], где пациент с тяжелой миастенией представляет пациента с диагностированной тяжелой миастенией, проявляющей генерализованную мышечную слабость, которая подпадает под II, III или IV класс клинической классификации Американского фонда тяжелой миастении (Myasthenia Gravis Foundation of America) (MGFA).

[30]

Антитело по [28] или [29], где доза антитела для пациента с массой тела 100 кг или менее составляет 120 мг/введение, и доза антитела для пациента с массой тела более чем 100 кг составляет 180 мг /введение.

[31]

Антитело по [28] или [29], где доза антитела для пациента с массой тела 100 кг или менее составляет 120 мг /введение, и доза антитела для пациента с массой тела более чем 100 кг составляет 240 мг /введение.

[32]

Антитело по [28] или [29], где доза антитела для пациента с массой тела 100 кг или менее составляет 180 мг /введение, и доза антитела для пациента с массой тела более чем 100 кг составляет 240 мг /введение.

[33]

Лекарственное средство, включающее фиксированную дозу 180 мг сатрализумаба, в качестве активного ингредиента.

[34]

Лекарственное средство, включающее фиксированную дозу 240 мг сатрализумаба, в качестве активного ингредиента.

[35]

Промышленное изделие, включающее фиксированную дозу 180 мг сатрализумаба в фармацевтически приемлемом наполнителе.

[36]

Промышленное изделие, включающее фиксированную дозу 240 мг сатрализумаба в фармацевтически приемлемом наполнителе.

[37]

Промышленное изделие, включающее:

(I) контейнер;

(II) фармацевтическую композицию, включающую фиксированную дозу 180 мг сатрализумаба в контейнере; и

(III) необязательно, этикетку на упаковке или вкладыш, прилагаемый к контейнеру.

[38]

Промышленное изделие, включающее:

(I) контейнер;

(II) фармацевтическую композицию, включающую фиксированную дозу 240 мг сатрализумаба в контейнере; и

(III) необязательно, этикетку на упаковке или вкладыш, прилагаемый к контейнеру.

[39]

Промышленное изделие по любому из [35]-[38], где промышленное изделие представляет устройство для подкожного введения.

[40]

Промышленное изделие по любому из [35]-[38], где промышленное изделие представляет предварительно заполненный шприц.

[41]

Промышленное изделие по любому из [35]-[38], где промышленное изделие представляет шприц для самоинъекции.

### Технический эффект изобретения

Настоящее изобретение может обеспечить фармацевтические композиции для лечения или профилактики миастении с механизмом действия, отличным от механизма действия существующих лекарственных средств.

#### Краткое описание Фигур

На Фигуре 1 показан план исследования III фазы многоцентрового рандомизированного двойного слепого плацебо-контролируемого исследования. DB - двойное слепое исследование, LA - последняя оценка, LO - последнее наблюдение, OLE - открытое расширенное исследование, PK - фармакокинетика, а SOC - стандарт лечения. а: Исходная оценка на 0 неделе, следует собирать перед введением дозы. б: 0 неделя периода OLE совпадает с 24 неделями DB. в: Пациенты, получавшие активный препарат в период DB, будут иметь назначение дозы плацебо на 2-й неделе периода OLE, чтобы сохранить маскировку при назначении лечения в период DB. г: Общая продолжительность исследования от скрининга первого пациента до окончания периода OLE по оценкам составляет примерно 4 года.

На Фигуре 2 показаны прогнозируемые параметры равновесной экспозиции (максимальная концентрация ( $C_{max}$ ), минимальная концентрация ( $C_{trough}$ )) и показатели занятости рецепторов (RO) в сыворотке крови после введения 120 мг и 180 мг каждые 4 недели у пациентов с массой тела 100 кг или меньше (40-100 кг) и пациентов с массой тела более 100 кг (100-160 кг), соответственно.  $C_{max}$  представляет равновесную максимальную концентрацию,  $C_{tr}$  представляет равновесную минимальную концентрацию, а RO представляет занятость рецептора в равновесном состоянии. Графики показывают результаты моделирования для 2000 особей. Прогнозируемые значения  $C_{max}$  показаны на Фигуре 2А, прогнозируемые значения  $C_{trough}$  - на Фигуре 2Б, а прогнозируемые значения RO - на Фигуре 2В. Точки представляют смоделированные данные, основанные на предположении, что процент пациентов с положительным результатом на ADA (антитело к лекарственному средству) такой же, как и в исследованиях ЗСОНМ (расстройство спектра оптиконейромиелита). Контроль представлен пунктирными горизонтальными линиями.

На Фигуре 3 показано, что схема применения 180 мг и 240 мг каждые 4 недели для пациентов с массой тела 100 кг или менее (40–100 кг) и более 100 кг (100–160 кг), соответственно, как ожидается, будет поддерживать целевой

показатель уровня RO во всех диапазонах массы тела.  $C_{tr}$  представляет равновесную минимальную концентрацию, а RO представляет занятость рецептора в равновесном состоянии.

На Фигуре 4 показана система клинической классификации MGFA (Американского фонда тяжелой миастении) (Myasthenia Gravis Foundation of America))

На Фигуре 5 показан образец опросника повседневной активности при МГ (MG-ADL).

На Фигуре 6 показан образец опросника количественной оценки тяжести клинических проявлений миастении (QMG).

На Фигуре 7 показан образец опросника комплексной оценки при тяжелой миастении (MGC).

На Фигуре 8 показан образец опросника по 15-бальной шкале оценки качества жизни при тяжелой миастении (MG) (пересмотренная) (MG-QOL 15r).

На Фигуре 9 показан образец опросника с краткой формой оценки качества жизни, уровня утомляемости у лиц с неврологическими расстройствами (Neuro-QOL Fatigue) (Neurology Quality-of-Life Fatigue Short Form scale).

На Фигуре 10 показаны доли пациентов с клиренсом, выходящим за пределы 0,8-1,25 от среднепопуляционного значения, и пациентов с RSE более 0,2 для каждого количества оцениваемых случаев при моделировании, выполненном для пациентов HV (здоровые взрослые) и ЗСОНМ (NMOSD) (расстройство спектра оптиконейромиелита). RSE представляет остаточную стандартную ошибку.

#### Описание вариантов осуществления изобретения

Ниже настоящее изобретение будет описано подробно.

Настоящее изобретение относится к фармацевтическим композициям для применения при лечении или для профилактики тяжелой миастении (MG).

Используемый в описании настоящей патентной заявки термин «антитело» относится к антителу, которое блокирует передачу сигнала IL-6 и ингибирует биологическую активность IL-6. Предпочтительно антитело является антителом, обладающим ингибирующим действием в отношении связывания IL-6, рецептора IL-6 или gp130.

Антитела по настоящему изобретению включают без ограничения, например, антитела к IL-6, антитела к рецепторам IL-6 и антител к gp130.

Предпочтительные антитела по настоящему изобретению включают антитела к рецептору IL-6, которые распознают Рецептор IL-6.

Используемое по настоящему изобретению антитело к рецептору IL-6 может быть получено, как поликлональное, так и как моноклональное антитело при использовании известных способов. В частности, используемое по настоящему изобретению антитело к рецептору IL-6 предпочтительно представляет моноклональное антитело, полученное от млекопитающего. Моноклональные антитела, полученные от млекопитающего, включают таковые, продуцируемые гибридомой, и те, которые продуцируются хозяином, который был трансформирован вектором экспрессии, содержащим ген, кодирующий антитело, при использовании методов генной инженерии. Связываясь с рецептором IL-6, это антитело ингибирует связывание IL-6 с рецептором IL-6 и блокирует передачу биологической активности IL-6 в клетки.

Примеры такого антитела включают антитело MR16-1 (Tamura, T. *et al.* Proc. Natl. Acad. Sci. USA (1993) 90, 11924-11928), антитело PM-1 (Hirata, Y. *et al.*, J. Immunol. (1989) 143, 2900-2906), антитело AUK12-20, антитело AUK64-7 и антитело AUK146-15 (публикация международной патентной заявки № WO 92-19759). Среди них антитело PM-1, которое является примером предпочтительного моноклонального антитела против человеческого рецептора IL-6, и антитело MR16-1, которое является примером предпочтительного моноклонального антитела против мышинного рецептора IL-6.

В принципе, гибридомы, продуцирующие антитело к рецептору IL-6, могут быть получены при использовании известных методов следующим образом: рецептор IL-6 используют в качестве сенсibiliзирующего антигена для проведения иммунизации обычным способом, полученные иммунные клетки сливают с известными родительскими клетками обычным способом слияния клеток, а затем клетки подвергают скринингу на наличие клеток, продуцирующих моноклональные антитела, обычным методом скрининга

В частности, антитела к рецептору IL-6 могут быть получены, как указано ниже. Человеческий рецептор IL-6 человека или мышиный рецептор IL-6, используемый в качестве сенсibiliзирующего антигена для получения антител, может быть получен, например, при использовании гена рецептора IL-6 и/или аминокислотных последовательностей, соответственно раскрытых в публикации



патентной заявки на Европейский патент № EP 325474 и публикации патентной заявки на патент Японии *Kokai* (JP-A) H03-155795.

Существует два типа рецепторных белков IL-6: IL-6 рецептор, экспрессированный на клеточной мембране, и IL-6 рецептор, отсоединенный от клеточной мембраны (рецептор растворимого IL-6) (Yasukawa, K. *et al.*, J. Biochem. (1990) 108, 673-676). Рецептор растворимого IL-6, по существу, состоит из внеклеточной области связанного с клеточной мембраной рецептора IL-6 и отличается от связанного с мембраной рецептора IL-6 тем, что в нем отсутствует трансмембранная область или как трансмембранная, так и внутриклеточная области. Любой рецептор IL-6 может быть использован в качестве рецепторного белка IL-6, при условии, что он может быть использован в качестве сенсibiliзирующего антигена для продуцирования антител к рецептору IL-6 по настоящему изобретению.

Последовательность гена рецептора IL-6 вставляют в известную систему вектора экспрессии и трансформируют соответствующую клетку-хозяина. Затем целевой рецептор белка IL-6 очищают от внутреннего содержимого клетки-хозяина или от супернатанта культуры, используя известный способ. Этот очищенный рецепторный белок IL-6 может быть использован в качестве сенсibiliзирующего антигена. В качестве альтернативы, в качестве сенсibiliзирующего антигена могут быть использованы, например, клетки, экспрессирующие рецептор IL-6, или слитый белок рецепторного белка IL-6 с другим белком.

Млекопитающие, подлежащие иммунизации сенсibiliзирующим антигеном, по существу не ограничены, но предпочтительно отбираются с учетом совместимости с родительскими клетками, используемыми для слияния клеток. Как правило, используются грызуны, такие как мыши, крысы и хомяки.

Животных иммунизируют сенсibiliзирующим антигеном в соответствии с известными способами. Как правило, иммунизацию проводят, например, путем внутрибрюшинной или подкожной инъекции сенсibiliзирующего антигена млекопитающему. В частности, предпочтительно разбавлять или суспендировать сенсibiliзирующий антиген в физиологическом растворе с фосфатным буфером (ФСБ (PBS)), физиологическом растворе и т.п. до соответствующего объема и смешивать его с соответствующим количеством обычного адьюванта, такого как полный адьювант Фрейнда, при необходимости, и эмульгировать, а затем

вводить млекопитающему несколько раз каждые 4-21 дней. Для иммунизации сенсibiliзирующим антигеном можно использовать соответствующий носитель.

После иммунизации млекопитающего таким способом и подтверждения повышения уровня требуемых антител в сыворотке иммунизированные клетки удаляют из организма млекопитающего и подвергают слиянию с клетками. Наиболее предпочтительными клетками для слияния с иммунизированными клетками являются клетки селезенки.

Клетки миеломы млекопитающих используют в качестве клеток-предшественников для слияния с иммунизированными клетками. Как правило, используют различные известные клеточные линии, такие как P3X63Ag8.653 (Kearney, J. F. *et al.*, *J. Immunol* (1979) 123, 1548-1550), P3X63Ag8U.1 (*Current Topics in Microbiology and Immunology* (1978) 81, 1-7), NS-1 (Kohler, G. and Milstein, C., *Eur. J. Immunol.* (1976) 6, 511-519), MPC-11 (Margulies, D. H. *et al.*, *Cell* (1976) 8, 405-415), SP2/0 (Shulman, M. *et al.*, *Nature* (1978) 276, 269-270), F0 (de St. Groth, S. F. *et al.*, *J. Immunol. Methods* (1980) 35, 1-21), S194 (Trowbridge, I. S., *J. Exp. Med.* (1978) 148, 313-323), и R210 (Galfre, G. *et al.*, *Nature* (1979) 277, 131-133).

В основном слияние указанных выше иммунизированных клеток с клетками миеломы можно проводить при использовании стандартных методик, таких как способ Milstein *et al.* (Kohler, G. and Milstein, C., *Methods Enzymol.* (1981) 73, 3-46).

В частности, слияние клеток проводят, например, в стандартной питательной культуральной среде в присутствии промотора слияния клеток. Например, в качестве промотора слияния используют полиэтиленгликоль (ПЭГ (PEG)) или вирус Сендая (HVJ), и при необходимости можно также добавлять адьювант, такой как диметилсульфоксид, для улучшения эффективности слияния.

Используемое соотношение иммунных клеток к клеткам миеломы предпочтительно составляет, например, от 1 до 10 иммунных клеток на каждую клетку миеломы. Питательной средой, используемой для слияния клеток, является, например, питательная среда RPMI 1640 или MEM, подходящая для пролиферации клеточных линий миеломы. Также могут быть использованы другие обычные питательные среды, используемые для культивирования этого

типа клеток. Кроме того, в комбинации также могут быть использованы дополнительные сыворотки, такие как фетальная телячья сыворотка (FCS).

Для слияния клеток интересующие слитые клетки (гибридомы) получают при тщательном смешивании предварительно определенных количеств упомянутых выше иммунизированных клеток и клеток миеломы в указанной выше культуральной среде, добавлении раствора ПЭГ (например, раствора ПЭГ со средней молекулярной массой приблизительно от 1000 до 6000), предварительно нагретого до температуры около 37°C, как правило, при концентрации от 30% до 60% (мас./об.) с последующим перемешиванием. Затем агенты для слияния клеток и агенты, непригодные для роста гибридом, можно удалять при повторении последовательных операций: добавление соответствующей культуральной среды и удаление супернатанта центрифугированием.

Гибридомы отбирают путем культивирования в общей селекционной культуральной среде, например, культуральной среде НАТ (культуральная среда, содержащая гипоксантин, аминоптерин и тимидин). Культивирование в культуральной среде НАТ продолжают в течение достаточного периода, обычно от нескольких дней до нескольких недель, для уничтожения клеток, отличающихся от целевых гибридом (неслитые клетки). Затем выполняют стандартным методом серийные разведения для скрининга и клонирования гибридом, которые продуцируют целевые антитела.

Помимо получения гибридом иммунизацией антигеном, животных отличных от человека, можно получать требуемые человеческие антитела с активностью связывания с требуемым антигеном или антиген экспрессирующей клеткой сенсбилизацией лимфоцитов человека требуемым антигенным белком или антиген экспрессирующей клеткой *in vitro*, и слиянием сенсбилизированного В лимфоцита с клетками миеломы человека, такими как U266 (смотрите, патентную заявку Японии *Kokoku* № (JP-B) H01-59878)). Дополнительно, антиген или антиген экспрессирующую клетку можно вводить трансгенному животному с репертуаром генов человеческих антител и затем получать требуемые человеческие антитела по вышеупомянутой методике (смотрите, публикации международных патентных заявок №№ WO 93/12227, WO 92/03918, WO 94/02602, WO 94/25585, WO 96/34096 и WO 96/33735).

Полученные таким образом гибридомы, продуцирующие моноклональное антитело, можно пассировать в обычной питательной среде и хранить в жидком азоте в течение длительного периода времени.

Для получения моноклональных антител из гибридом могут быть использованы следующие способы: культивирование гибридом в соответствии с традиционными способами и получение антитела в виде культурального супернатанта, или пролиферация гибридом введением их совместимому млекопитающему и получения антитела из асцита и тому подобное.

Первый способ подходит для получения антитела высокой чистоты, а второй подходит для крупномасштабного производства антител.

Например, гибридомы, которые продуцируют антитела к рецептору IL-6, могут быть получены при использовании способа, описанного в патенте Японии JP-A (*Kokai*) H03-139293. Такое получение можно осуществить введением гибридом, продуцирующих антитела PM-1, в брюшную полость мыши BALB/c, при этом образуется асцитная жидкость, с последующим выделением антител PM-1 из асцитной жидкости, или при культивировании гибридом в соответствующей среде (такой как среда RPMI 1640, содержащая 10% фетальной телячьей сыворотки и 5% BM-Condimed H1 (Boehringer Mannheim), или среда для гибридом SFM (GIBCO-BRL), или среда PFHM-II (GIBCO-BRL)) с последующей очисткой антител PM-1 от культурального супернатанта.

Рекомбинантные антитела могут быть использованы в качестве моноклональных антител по настоящему изобретению, при этом рекомбинантные антитела получают при использовании технологий генетической рекомбинации клонированием гена антитела из гибридомы, вставкой гена в соответствующий вектор и введением вектора в клетку-хозяин (смотрите, например, *Vogrebaeck C.A.K. и Larrick, J.W., THERAPEUTIC MONOCLONAL ANTIBODIES*, издано в Великобритании MACMILLAN PUBLISHERS LTD, 1990).

В частности, мРНК, кодирующие переменные области антител (V), выделяют из клеток, которые продуцируют представляющие интерес антитела, таких как гибридомы. мРНК может быть выделена получением суммарных РНК в соответствии с известными способами, такими как метод ультрацентрифугирования гуанидина (*Chirgwin, J. M. et al., Biochemistry (1979) 18, 5294-5299*) и метод AGPC (*Chomczynski, P. et al., Anal. Biochem. (1987) 162,*

156-159) и получение мРНК при использовании набора для очистки мРНК (Pharmacia) и тому подобного. В качестве альтернативы, мРНК могут быть непосредственно получены с помощью набора для очистки мРНК QuickPrep (Pharmacia).

кДНК V областей антитела синтезируют из полученных мРНК при использовании обратной транскриптазы. кДНК могут быть синтезированы при использовании набора для синтеза кДНК первой цепи обратной транскриптазы AMV и тому подобного. Кроме того, для синтеза и амплификации кДНК используют метод 5'-RACE (Frohman, M. A. et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85, 8998-9002 (1988); Belyavsky A. и др., Nucleic Acids Res. (1989)17, 2919-2932) можно использовать набор 5'-Ampli FINDER RACE (Clontech) и ПЦР.

Представляющий интерес фрагмент ДНК очищают от полученных продуктов ПЦР и затем лигируют с векторной ДНК. Затем получают рекомбинантный вектор при использовании указанного выше и вводят в *Escherichia coli* и тому подобное, а затем отбирают ее колонии для получения желаемого рекомбинантного вектора. Нуклеотидную последовательность представляющей интерес ДНК подтверждают известным способом, таким как дидезокси-метод.

После получения ДНК, кодирующей V область представляющего интерес антитела, ДНК лигируют ДНК, кодирующей константную область (С-область) желаемого антитела, и вставляют в вектор экспрессии. В качестве альтернативы, ДНК, кодирующая V область антител, может быть вставлена в вектор экспрессии, включающий ДНК С области антитела.

Для получения антитела, которое будет использоваться по настоящему изобретению, ген антитела вставляют в вектор экспрессии таким образом, что он экспрессируется под контролем области, регулирующей экспрессию, такой как энхансер и промотор, как описано ниже. Затем антитело может быть экспрессировано трансформацией клетки-хозяина этим вектором экспрессии.

По настоящему изобретению для снижения гетероантигенности в отношении человека могут быть использованы, например, искусственно модифицированные рекомбинантные антитела, например, химерные антитела, гуманизированные антитела или человеческие антитела. Эти модифицированные антитела могут быть получены известными способами.

Химерное антитело может быть получено лигированием ДНК, кодирующей V область антитела, полученной, как указано выше, ДНК, кодирующей С

область антитела человека, вставкой ее в вектор экспрессии и введением вектора хозяину для получения химерного антитела (смотрите, Европейскую патентную заявку № EP 125023; Международную патентную заявку № WO 92-19759). Этот известный способ может быть использован для получения химерного антитела, используемого по настоящему изобретению.

Гуманизированные антитела называют также реконструированными антителами человека или антителами человеческого типа. Их получают трансплантацией определяющих комплементарность областей антитела (CDR), млекопитающих, отличных от человека (например, мышей) в CDR антитела человека. Также известны общие методы рекомбинации этого гена (смотрите, Европейскую патентную заявку № EP 125023 и Международную патентную заявку № WO 92-19759).

В частности, последовательности ДНК, сконструированные для лигирования CDR антитела мыши с каркасными областями (FR) человеческого антитела, синтезировали методом ПЦР из нескольких олигонуклеотидов, содержащих перекрывающиеся участки в их концевых фрагментах. Полученную ДНК лигируют ДНК, кодирующей С область антитела человека, вставляют в вектор экспрессии и вектор экспрессии вводят в организм хозяина с получением при этом гуманизованного антитела (смотрите, европейскую патентную заявку № EP 239400, международную патентную заявку №. WO 92-19759).

Человеческие FR, подлежащие лигированию с помощью CDR, выбираются таким образом, чтобы CDR образовывали удовлетворительные сайты связывания с антигеном. Аминокислота(ы) в каркасных областях переменных областей антитела может быть замещена по мере необходимости, так что CDR измененного человеческого антитела образуют соответствующие сайты связывания с антигеном (Sato, K. *et al.*, Cancer Res. (1993) 53, 851-856).

Константные области человеческого антитела (С области) используют для получения химерного и гуманизованного антитела. Примеры С областей человеческих антител могут включать участки С $\gamma$ , например, можно использовать участки С $\gamma$ 1, С $\gamma$ 2, С $\gamma$ 3 и С $\gamma$ 4. Кроме того, для улучшения стабильности антител или их продуцирования можно модифицировать С области антитела человека.

Химерные антитела состоят из переменной области антитела, полученного от млекопитающего, отличного от человека, и С области,

полученной из человеческого антитела; а гуманизированные антитела состоят из CDR антитела, полученного от млекопитающего, отличного от человека, и каркасных областей и С областей, полученных из человеческого антитела. Их антигенность в организме человека снижена и, таким образом, их можно использовать в качестве антител для применения по настоящему изобретению.

Предпочтительные конкретные примеры гуманизированных антител по настоящему изобретению включают гуманизированные антитела РМ-1 (Международная патентная заявка № WO 92-19759).

Кроме того, в дополнение к вышеупомянутым способам получения антител человека также известны способы получения антител человека путем пеннинга при использовании библиотеки антител человека. Например, переменная область человеческого антитела может быть экспрессирована на поверхности фага в виде одноцепочечного антитела (scFv) при использовании метода фагового отображения, и затем могут быть выбраны антигенсвязывающие фаги. При анализе генов выбранных фагов можно определить последовательность ДНК, кодирующую переменную область антитела человека, которая связывается с антигеном человека. После обнаружения последовательности ДНК scFv, которая связывается с антигеном, может быть получен соответствующий вектор экспрессии для получения антитела человека. Такие способы уже известны из №№ WO 92/01047, WO 92/20791, WO 93/06213, WO 93/11236, WO 93/19172, WO 95/01438 и WO 95/15388 и они могут быть использованы в качестве ссылок.

Ген антитела, сконструированный, как указано выше, может быть экспрессирован при использовании стандартных способов. При использовании клетки млекопитающего ген антитела можно экспрессировать при использовании ДНК, в которой обычно используется эффективный ген промотор, ген антитела, подлежащий экспрессии, и сигнал поли-А на 3' конце (нижестоящий) гена антитела, функционально связанные друг с другом, или при использовании вектора, включающего ДНК. Примеры промотора/энхансера включают немедленно-ранний промотор/энхансер цитомегаловируса человека.

Дополнительно, другие промоторы/энхансеры, которые могут быть использованы для экспрессии антител по настоящему изобретению, включают промоторы/энхансеры из ретровирусов, вирусов полиомы, аденовирусов, вируса

обезьяны 40 (SV40) и аналогичное им, и промоторы/энхансеры из клеток млекопитающих, такие как фактор элонгации человека 1 $\alpha$  (HEF1 $\alpha$ ).

Экспрессия может быть легко проведена, например, при использовании следующего способа, описанного Mulligan *et al.* (Mulligan, R. C. *et al.*, Nature (1979) 277, 108-114) промотора/энхансера SV40, или следующего способа, описанного Mizushima *et al.* (Mizushima, S. and Nagata S., Nucleic Acids Res. (1990) 18, 5322) при использовании промотора/энхансера HEF1 $\alpha$ .

При использовании *E. coli* ген антитела может быть экспрессирован функциональным связыванием стандартного эффективного гена промотора, сигнальной последовательности для секреции антител и гена антитела, подлежащего экспрессии. Примеры промоторов включают промотор lacZ и промотор agaB. Промотор lacZ может быть использован согласно способу, описанному Ward *et al.* (Ward, E. S. *et al.*, Nature (1989) 341, 544-546; Ward, E. S. *et al.*, FASEB J. (1992) 6, 2422-2427); промотор agaB может быть использован согласно способу, описанному Better *et al.* (Better, M. *et al.*, Science (1988) 240, 1041-1043).

При продуцировании антитела в периплазме *E. coli* сигнальная последовательность *pel B* Lei, S. P. *et al.*, J. Bacteriol. (1987) 169, 4379-4383) может быть использована в качестве сигнальной последовательности для секреции антител. Антитело, продуцированное в периплазме, выделяют и затем подвергают соответствующему рефолдингу структуру используемого антитела (смотрите, например, WO 96/30394).

В качестве источника репликации могут быть использованы таковые, полученные из вируса SV40, вируса полиомы, аденовируса, вируса папилломы быка (BPV) и аналогичного им. Дополнительно, для увеличения числа копий гена в системе клетка-хозяин вектор экспрессии может включать в качестве маркера селекции ген аминокликозид-фосфотрансферазы (APH), ген тимидинкиназы (ТК), ген ксантин-гуанинфосфорибозилтрансферазы *E. coli* (EcoGpt), ген дигидрофолатредуктазы (*dhfr*) и аналогичное им.

Для получения антитела по настоящему изобретению можно использовать любую систему продуцирования. Системы для продуцирования антител включают системы для продуцирования *in vitro* и *in vivo*. Системы продуцирования *in vitro* включают системы, использующие эукариотические клетки или прокариотические клетки.



При использовании эукариотических клеток системы продуцирования включают системы, в которых используются клетки животных, растений или грибов. Такие клетки животных включают (1) клетки млекопитающих, такие как клетки CHO, COS, миеломы, почки новорожденного хомяка (ВНК), HeLa и Vero, (2) клетки амфибий, такие как ооциты *Xenopus*, и (3) клетки насекомых, такие как sf9, sf21 и Tn5. Известные клетки растений включают клетки из *Nicotiana tabacum*, которые можно культивировать в каллусе. Известные клетки грибов включают дрожжи, такие как *Saccharomyces* (например, *Saccharomyces cerevisiae*) и плесневые грибы, такие как *Aspergillus* (например, *Aspergillus niger*).

При использовании прокариотических клеток системы продуцирования включают системы, в которых используются клетки бактерий. Известные клетки бактерий включают *E. coli* и *Bacillus subtilis*.

Антитела могут быть получены введением гена интересующего антитела в такие клетки для трансформации с последующим культивированием трансформированных клеток *in vitro*. Клетки культивируют в соответствии с известными методами. Например, в качестве культуральной среды может быть использована DMEM, MEM, RPMI 1640 или IMDM, и в комбинации можно использовать сывороточные среды, такие как фетальная телячья сыворотка (FCS).

В качестве альтернативы, клетки, в которые введен ген антитела, могут быть перенесены в брюшную полость, и такое животное продуцирует антитела *in vivo*.

При этом системы продуцирования *in vivo* включают системы, в которых используют животных, или системы, в которых используют растения. При использовании системы продуцирования животных, таковые включают системы, использующие млекопитающих или насекомых.

Млекопитающие, которых можно использовать, включают коз, свиней, овец, мышей и крупный рогатый скот (Vicki Glaser, SPECTRUM Biotechnology Applications, 1993). Дополнительно, насекомые, которых можно использовать, включают тутовых шелкопрядов. При использовании растений может использоваться табак и аналогичное ему.

Ген антитела вводится этим животным или растениям, и антитела продуцируются в организме животных или в растениях с последующим выделением этих антител. Например, ген антитела может быть получен в виде

слитого гена путем вставки его в середину гена, кодирующего белок, уникально вырабатываемый в молоке, такой как козий  $\beta$ -казеин. Фрагменты ДНК, содержащие слитый ген, включающий встроенный ген антитела, вводят эмбрионы коз, и эмбрионы вводят самкам коз. Требуемые антитела получают из молока коз, рожденных козами, получившими эмбрионы, или их потомством. При необходимости трансгенные козы могут получать гормоны для увеличения объема молока, содержащего требуемые антитела, которые они продуцируют (Ebert, K. M. *et al.*, *Bio/Technology* (1994) 12, 699-702).

При использовании тутовых шелкопрядов их инфицируют бакуловирусом, в который вставлен требуемый ген антитела, и требуемые антитела получают из биологических жидкостей этих тутовых шелкопрядов (Maeda S. и др., *Nature* 315, 592-594 (1985)). Более того, при использовании табака представляющий интерес ген антитела вставляют в вектор экспрессии растений, такой как pMON530, и вектор вводят в бактерии, такие как *Agrobacterium tumefaciens*. Эту бактерию используют для инфицирования табака, такого как *Nicotiana tabacum*, и затем из листьев табака получают требуемое антитело (Julian, K.-C. *Ma et al.*, *Eur. J. Immunol.* (1994) 24, 131-138).

При получении антитела при использовании систем продуцирования *in vitro* или *in vivo*, как указано выше, ДНК, кодирующие тяжелую цепь (цепь H) и легкую цепь (цепь L) антитела, могут быть встроены в отдельные векторы экспрессии, и затем организм-хозяин ко-трансформируют векторами. В качестве альтернативы, ДНК, кодирующая H цепь, и ДНК, кодирующая L цепь, может быть встроена в один вектор экспрессии для трансформации организма-хозяина (смотрите, международную патентную заявку № WO 94-11523).

Антитела по настоящему изобретению могут представлять фрагменты антител или их модифицированные продукты при условии, что они подходят для применения по настоящему изобретению. Например, фрагменты антитела включают Fab, F(ab')<sub>2</sub>, Fv и одноцепочечный Fv (scFv), в которых фрагменты Fv H и L цепей соединены через соответствующий линкер.

В частности, фрагменты антитела получают обработкой антитела ферментами, такими как папаин или пепсин, или в качестве альтернативы конструированием генов, кодирующих такие фрагменты антител, и затем введением их в векторы экспрессии с последующей экспрессией векторов в соответствующих клетках-хозяевах (смотрите, например, Co, M. S. *et al.*, J.

Immunol. (1994) 152, 2968-2976; Better, M. & Horwitz, A. H., Methods in Enzymology (1989) 178, 476-496; Plueckthun, A. & Skerra, A., Methods in Enzymology (1989) 178, 497-515; Lamoyi, E., Methods in Enzymology (1989) 121, 652-663; Rousseaux, J. *et al.*, Methods in Enzymology (1989) 121, 663-666; и Bird, R. E. *et al.*, TIBTECH (1991) 9, 132-137).

scFv может быть получен путем соединением V области H цепи и V области L цепи антитела. В таком scFv V область H цепи и L область L цепи соединены *через* линкер, предпочтительно *через* пептидный линкер (Huston, J. S. *et al.*, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85, 5879-5883 (1988)). V области H и L цепей в scFv могут быть получены из любого из антител, указанных выше. Пептидные линкеры для соединения V областей включают, например, произвольно выбранный одноцепочечный пептид, состоящий из 12-19 аминокислотных остатков.

ДНК, кодирующая scFv, может быть получена амплификацией участка ДНК, которая кодирует требуемую аминокислотную последовательность в матричных последовательностях, при использовании ПЦР и пары праймеров, которые определяют концевой участок, при этом ДНК, кодирующую H цепь или V область H цепи, и ДНК, кодирующую L цепь или V область L цепи, указанных выше антител, используют в качестве матриц, с последующей амплификацией амплифицированного участка ДНК при использовании ДНК, кодирующей участок пептидного линкера и пары праймеров, которые определяют оба конца линкера таким образом, чтобы он был связан с каждой из H и L цепей.

После получения ДНК, кодирующей scFv, может быть получен вектор экспрессии, включающий ДНК, и организм-хозяин, трансформированный вектором экспрессии, в соответствии с обычными способами. Кроме того, scFv может быть получен в соответствии с обычными методами при использовании организма-хозяина.

Аналогично указанному выше, фрагменты антитела могут быть получены путем получения их генов, их экспрессии, а затем использования хозяина. Используемый в описании настоящей патентной заявки термин «антитело» включает в объем понятия такие фрагменты антител.

Также в качестве модифицированного антитела могут быть использованы антитела, связанные с различными молекулами, такими как полиэтиленгликоль (ПЭГ). Используемый в описании настоящей патентной заявки термин «антитело» включает в объем понятия такие модифицированные антитела. Эти

модифицированные антитела могут быть получены химической модификации полученного антитела. Такие методы известны в области техники, к которой относится настоящее изобретение.

Антитела, продуцируемые и экспрессируемые, как указано выше, могут быть выделены из внутреннего или внешнего пространства клеток или из клеток-хозяев и затем очищены до гомогенности. Антитела по настоящему изобретению могут быть выделены и очищены при использовании аффинной хроматографии. Колонки, используемые для аффинной хроматографии, включают колонки с иммобилизованным белком А и колонки с иммобилизованным белком G. Носители, используемые для колонок с белком А, включают HyperD, POROS и Sepharose F.F. Для выделения и/или очистки стандартных белков также без ограничений могут быть использованы другие методы.

Например, антитела по настоящему изобретению можно выделять и очищать при использовании выбранных соответствующим образом методов хроматографии и при комбинировании других видов хроматографии, отличающихся от описанной выше аффинной хроматографии, а также методов фильтрации, ультрафильтрации, высаливания, диализа и аналогичного им. Примеры других хроматографий включают ионно-обменную хроматографию, гидрофобную хроматографию и гель-фильтрацию. Эти хроматографии могут быть применены для высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) (HPLC). В качестве альтернативы, может быть использована обратнофазная ВЭЖХ.

Концентрация антител, полученных, как указано выше, может быть определена измерением оптической плотности, ELISA и аналогичного им. В частности, при измерении оптической плотности концентрацию можно определить путем соответствующего разбавления раствора антитела PBS(-) (фосфатно-солевым буферным раствором), измерения его оптической плотности при 280 нм и вычисления концентрации при использовании коэффициента пересчета 1,35 OD/1 MG /мл. В качестве альтернативы, при использовании ELISA концентрацию можно определить, как описано ниже. В частности, 100 мкл антитела козы к IgG человека (TAG), разведенного до 1 мкг/мл 0,1 М бикарбонатным буфером (pH 9,6), добавляют в 96-луночный планшет (Nunc) и инкубируют в течение ночи при 4°C для иммобилизации антитела.

После блокирования добавляют 100 мкл соответствующим образом разбавленного антитела по настоящему изобретению или соответствующим образом разведенного образца, содержащего антитело, или человеческого IgG (CAPPEL) в качестве стандарта и планшет инкубируют в течение 1 ч при комнатной температуре.

После промывки добавляли 100 мкл 5000-кратного разведенного меченного щелочной фосфатазой IgG человека (BIO SOURCE) и инкубируют планшет в течение одного часа при комнатной температуре. После еще одной промывки добавляют раствор субстрата, планшет инкубируют и измеряют поглощение при 405 нм при использовании ридера Microplate Reader Model 3550 (Bio-Rad) для расчета концентрации представляющего интерес антитела.

IL-6 - это воспалительный цитокин, продуцируемый Т-клетками, моноцитами, макрофагами и фибробластами. Являясь регулятором функций В- и Т-клеток, IL-6 плеiotропно воздействует на иммунную систему через свой специфический рецептор IL-6R. Повышенный уровень IL-6 наблюдался при различных воспалительных аутоиммунных заболеваниях, включая ревматоидный артрит (РА), системную красную волчанку (СКВ), ЗСОНМ (Icoz S. *et al.*, *Int J Neurosci.* 2010;120(1):71-5, Uzawa A. *et al.*, *J Neurol.* 2009;256(12):2082-4, Uzawa A. *et al.*, *Mult Scler.* 2010;16(12):1443-52) и болезнь Кастлемена (Ishihara K and Hirano T. *Cytokine & Growth Factor Reviews* 2002;13(4-5):357-68). В исследованиях MG, которые также включают аутоиммунные нарушения, наблюдались повышенные уровни IL-6 в крови и мышечных тканях неклинических моделей животных и пациентов с MG. Следовательно, IL-6 может быть вовлечен в патологический механизм MG. Например, это может (I) стимулировать созревание В-клеток в клетки, продуцирующие аутоантитело (способствовать выработке аутоантитела), и (II) индуцировать дифференцировку CD4-положительных Т-клеток в Th17 провоспалительные Т-клетки (индуцировать хроническое воспаление). Поскольку IL-6 не только непосредственно участвует в выработке аутоантител, но и обладает функциями, не зависящими от аутоантител, он может быть вовлечен в патогенез MG независимо от наличия или отсутствия аутоантител.

Регуляторные Т-клетки (Treg), которые подавляют чрезмерный иммунный ответ, и патогенные хелперные T17 (Th17) клетки представляют две подгруппы лимфоцитов с противоположной активностью при аутоиммунных заболеваниях,

таких как MG . IL-6, провоспалительный цитокин, является мощным фактором переключения иммунных реакций с индукции Treg на патогенные клетки Th17 *in vivo*. В исследовании на экспериментальной модели аутоиммунной тяжелой миастении (EAMG) и на здоровых контрольных крысах (Aricha R. *et al.*, J Autoimmun. 2011;36(2):135-41) сообщалось, что равновесие между клетками Treg и Th17 при заболевании было нарушено. Повышающая регуляция генов, связанных с клетками Th17, и понижающая регуляция генов, связанных с Treg, в модели EAMG показали тенденцию к восстановлению после введения антител к IL-6. Дополнительно, введение антител к IL-6 при EAMG подавляло прогрессирование EAMG и снижало общие титры антител IgG и В-клеток. Эти данные указывают на важность IL-6 как фактора модуляции аутоиммунного ответа при MG .

Кроме того, было также показано, что тоцилизумаб - блокатор передачи сигналов IL-6, эффективен у двух пациентов с умеренной и тяжелой с наличием антител к AChR MG и недостаточным ответом на ритуксимаб (Jonsson DI. *et al.*, Neuromuscular Disorders 2017;27(6):565-8). Таким образом, ингибирование передачи сигналов IL-6 служит возможным методом лечения для пациентов с MG .

Предпочтительные примеры «антитела к рецептору IL-6» по настоящему изобретению включают тоцилизумаб, который представляет гуманизованное антитело IgG1 к рецептору IL-6, и гуманизованное антитело к рецептору IL-6, продуцируемое путем модификации переменных и константных участков тилизумаба, в частности, антитела, которое содержит CDR1 тяжелой цепи, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 5, CDR2 тяжелой цепи, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 6, CDR3 тяжелой цепи, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 7, CDR1 легкой цепи, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 8, CDR2 легкой цепи, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 9, и CDR3 легкой цепи, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 10. Более предпочтительные антитела включают антитела, которые содержат переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1, и переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 2. Еще более предпочтительными являются

антителами, которые содержат тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 3 (тяжелая цепь SA237), и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 4 (легкая цепь SA237). Особенно предпочтителен SA237 (сатрализумаб).

Такие антитела могут быть получены в соответствии со способами, описанными в WO2010/035769, WO2010/107108, WO2010/106812, и тому подобное. В частности, антитела могут быть получены при использовании технологий генетической рекомбинации, известных специалистам в области техники, к которой относится настоящая патентная заявка, на основе последовательности указанного выше антитела к рецептору IL-6 (смотрите, например, Vorgrabaek CAK and Larrick JW, THERAPEUTIC MONOCLONAL ANTIBODIES, опубликовано в Великобритании MACMILLAN PUBLISHERS LTD, 1990). Рекомбинантное антитело может быть получено клонированием ДНК, кодирующей антитело, из гибридомы или продуцирующей антитело клетки, такой как сенсibilизированный лимфоцит, продуцирующий антитело, вставки ДНК в соответствующий вектор и введения вектора в хозяина (клетку-хозяина) для получения антитела.

Такие антитела могут быть выделены и очищены при использовании методов выделения и очистки, без ограничения традиционно используемых для очистки антитела. Например, антитела могут быть выделены и очищены путем соответствующего выбора и комбинирования: колоночной хроматографии, фильтрации, ультрафильтрации, высаливания, осаждения растворителем, экстракции растворителем, дистилляции, иммуноосаждения, электрофореза в SDS-полиакриламидном геле, изоэлектрической фокусирование, диализа, перекристаллизации и аналогичного им.

Антитела по настоящему изобретению могут представлять конъюгаты антител, связанные с различными молекулами, такими как полиэтиленгликоль (ПЭГ), радиоактивные вещества и токсины. Такие конъюгаты антител могут быть получены химической модификацией полученных антител. Способы модификации антител хорошо известны в области техники, к которой относится настоящая патентная заявка. Соответственно, используемый в описании настоящей патентной заявки термин «антитело» включает в объем понятия такие конъюгаты антител.

В Японии продажа сатрализумаба была одобрена в июне 2020 года по показанию «профилактика рецидивов расстройств оптического спектра нейромиелимита (включая оптический нейромиелит)». Результаты исследования безопасности препарата, полученные в ходе международных совместных клинических испытаний III фазы (тест SA-307JG и тест SA-309JG), нацеленных на популяцию пациентов с расстройствами оптического спектра нейромиелимита (ЗСОНМ) и/или оптическим нейромиелитом ((ОНМ) (NMO)), были в основном благоприятными. Сообщений о случаях летального исхода не поступало. Процент пациентов, у которых проявились серьезные побочные эффекты, в группе, получавшей сатрализумаб, был около таким же, как и в группе плацебо. Между двумя группами не было большой разницы в частоте нежелательных явлений, которые привели к прекращению приема тестируемого препарата, или в частоте нежелательных явлений, которые привели к отмене препарата. Результаты исследования безопасности препарата были схожи с тестом SA-309JG, который представляет тест с одним агентом, и тестом SA-307JG, который был комбинированным тестом с ранее существующей терапией (пероральные стероиды и/или иммунодепрессанты).

Тяжелая миастения (MG) - аутоиммунное заболевание, вызываемое нарушением передачи стимулов в нервно-мышечном соединении из-за нарушения работы рецепторов на мышечной стороне аутоантителами в нервно-мышечном соединении. В настоящее время не существует терапии для полного излечения, и в Японии это заболевание отнесено к категории трудноизлечимых. Заболевание характеризуется слабостью и быстрой утомляемостью скелетных мышцах, и оно ухудшается при повторении физических упражнений и улучшается при отдыхе (Практическое руководство для тяжелой миастении (MG) (Practical Guideline for Myasthenia Gravis (MG)) 2014 (под редакцией: Societas Neurologica Japonica), Nankodo Co., Ltd.). Необратимое повреждение мышц происходит редко, и максимальная сила часто оценивается, как хорошая. При этом снижение мышечной силы варьируется в зависимости от отдельных мышц и мышечных групп. Согласно статистике, в Японии (Практическое руководство для тяжелой миастении (MG) 2014 (под редакцией: Societas Neurologica Japonica), Nankodo Co., Ltd.) у 71,9% пациентов в качестве начальных симптомов наблюдается опущение века (птоз), а у 47,3% - двоение в глазах (диплопия). На момент постановки диагноза у 81,9% наблюдался птоз и у 59,1% - диплопия.



Около 20% симптомов, которые были при глазной MG , на момент постановки диагноза прогрессируют до генерализованного заболевания, и в результате у 85% пациентов с MG наблюдаются генерализованная MG (гMG) (Практическое руководство для тяжелой миастении (MG ) 2014 (под редакцией: Societas Neurologica Japonica), Nankodo Co., Ltd.), Nankodo Co., Ltd.; Kerty E. *et al.*, European Journal of Neurology 2014;21:687-93). Вслед за глазами симптомами часто поражаются скелетные мышцы конечностей. В статистических данных за 2006 год сообщается, что 23,1% пациентов испытывали слабость мышц шеи и конечностей при первоначальном проявлении и 44,1% на момент постановки диагноза. Частота заболеваемости снижается в таком порядке, начиная с трудностей при разговоре (дизартрия), трудностей при глотании (дисфагия), трудностей при жевании, ослабления лицевых мышц и затруднения дыхания. На ранней стадии заболевания симптомы часто носят преходящий характер и могут улучшиться через несколько недель или более. Однако симптомы прогрессируют и сохраняются, и обычно достигают пика в течение нескольких лет с момента начала заболевания у отдельных пациентов (Практическое руководство для тяжелой миастении (MG ) 2014 (под редакцией: Societas Neurologica Japonica), Nankodo Co., Ltd.), Nankodo Co., Ltd.).

«Глазной MG » по настоящему изобретению относится к MG , который проявляет только глазные симптомы, такие как птоз и диплопия, и классифицируется как MGFA I в соответствии с классификацией MGFA.

«Генерализованный MG (гMG)» по настоящему изобретению, относится к MG , при котором проявляются системные симптомы, отличные от глазных симптомов, таких как птоз и диплопия. Глазные симптомы, такие как птоз и диплопия, также могут присутствовать при гMG . Глазная MG может включать гMG , поскольку бывают случаи среди гMG , когда трудно отличить глазную MG (MGFA I) от легкой гMG (MGFA IIa).

Тяжелая миастения (MG ) вызывается аутоантителами против функционально важных молекул, присутствующих в постсинаптической мембране нервно-мышечных соединений.

Аутоантитела, связанные с MG , включают аутоантитела против ацетилхолиновых рецепторов (AChR), аутоантитела против мышечно-специфической тирозинкиназы (MuSK), аутоантитела против белка 4, связанного с рецепторами ЛПНП (Lrp4), и аналогичное им.

Несмотря на некоторые различия между отчетами относительно уровня положительной реакции аутоантител, около 80% от общего количества MG являются MG с наличием антител к AChR и около 7% являются MG с отсутствием антител к MuSK (Gilhus N. *et al.*, Nat Rev. Dis Primers 2019;5(30)). В последнее время аутоантитела против Lrp4, которые образуют комплекс с MuSK, считаются многообещающими кандидатами в качестве новых патогенных аутоантител MG, и есть сообщения о том, что около 3% от общего количества MG являются MG с наличием антител к Lrp4 (Gilhus N. *et al.*, Nat Rev Dis Primers 2019;5(30)). Дополнительно, несколько процентов от общего числа MG являются MG с отсутствием аутоантител, когда ни одно из указанных выше антител не выявляется при проявлении симптомов MG.

Ранее существующая терапия при генерализованной MG базируется на применении лекарственных средств согласно Практическому руководству для тяжелой миастении (MG) 2014 (под редакцией: Societas Neurologica Japonica). Терапевтические методы варьируются в зависимости от экспрессии аутоантител. При AChR-антителопозитивном генерализованном MG рекомендуется применение антихолинэстеразных препаратов (пиридостигмина бромид, амбенония хлорида и аналогичного им). После этого лечение проводится независимо от наличия или отсутствия аутоантител. Пероральные стероиды являются средством первой линии, а при недостаточном контроле симптомов в качестве средства второй линии рекомендуется переход на иммунодепрессанты (циклоспорин, такролимус гидрат и аналогичное им) и/или увеличение дозы пероральных стероидов, и/или комбинирование пероральных стероидов и иммунодепрессантов, а на поздней стадии рекомендуется пульс-терапия кортикостероидами, внутривенное введение иммуноглобулина (IVIg) и терапия очисткой крови. Экулизумаб был одобрен в 2017 году для лечения AChR-антителопозитивной гMG, и его применение направлено на лечение трудноизлечимой гMG. Существует международное консенсусное руководство по лечению (Sanders DB. *et al.*, Neurology 2016;87:419-25), и хотя предпочтение в применении иммунодепрессантов может варьироваться из-за различий в препаратах, которые покрываются страховкой, большой разницы в политике лечения между Японией и западными странами нет.

Фармацевтическая композиция по настоящему изобретению для лечения или профилактики пациентов с MG может быть использована для оказания

терапевтического воздействия, такого как предупреждение проявления МГ или облегчение или улучшение клинических симптомов у пациентов, страдающих МГ. Тяжелая миастения (МГ) представляет заболевание, которое прогрессирует в течение длительного периода времени. Практическое руководство для тяжелой миастении (МГ) 2014 (под редакцией: Societas Neurologica Japonica, Nankodo Co., Ltd) рекомендует лечить пациентов «с целью поддержания долгосрочного благоприятного качества жизни QOL, учитывая, что МГ является длительно протекающим заболеванием», а также рекомендует активно внедрять относительно сильную иммунотерапию с ранней стадии лечения. Начав лечение на ранней стадии, можно добиться терапевтических эффектов, таких как облегчение и улучшение симптомов, а также таких эффектов, как профилактика или недопущение прогрессирования симптомов.

Тяжелая миастения (МГ) - аутоиммунное заболевание, при котором трудно достичь полной ремиссии. Следовательно, даже если полная ремиссия не достигнута, облегчение или улучшение симптомов до уровня, при котором могут сохраняться минимальные проявления (МП), или поддержание такого состояния также включено в раздел «Лечение или профилактика пациентов с МГ».

Например, Практическое руководство для тяжелой миастении (МГ) 2014 (под редакцией: Societas Neurologica Japonica, Nankodo Co., Ltd) ставит целью, которая должна быть достигнута при лечении МГ, «уровень, при котором минимальные проявления (МП) могут поддерживаться пероральным приемом преднизолона в дозе 5 МГ /сутки или менее, при определении цели лечения, учитывая, что полной ремиссии трудно достичь при МГ». При достижении этой цели лечения, наряду с улучшением социальной активности, можно наблюдать явное улучшение качества жизни. Однако даже в специализированных амбулаторных клиниках Японии показатель достижения успеха в нынешних условиях по-прежнему составляет от 40% до 50% от общего числа случаев МГ. Для достижения этой цели необходимы дополнительные терапевтические альтернативы и терапевтические методы.

Дополнительно, введение фармацевтической композиции по настоящему изобретению пациентам, потенциально имеющим генетическую предрасположенность к МГ до момента манифестации симптомов МГ, может быть использовано для профилактики проявления МГ. Поскольку МГ - это заболевание, которое прогрессирует в течение длительного периода времени,

введение лекарственного средства по настоящему изобретению пациентам, у которых уже развилась МГ, может предотвратить прогрессирование симптомов МГ. Дополнительно, введение фармацевтической композиции по настоящему изобретению пациентам с развывшейся МГ, но до увеличения тяжести (например, до криза), может быть использовано для предотвращения увеличения тяжести МГ.

В частности, фармацевтическая композиция по настоящему изобретению для лечения или профилактики у пациентов с МГ имеет эффект предотвращения наступления МГ, предотвращая или устраняя прогрессирование симптомов, предотвращая увеличение тяжести МГ, или в терапии, такой, как облегчение или снижения проявления симптомов.

Критерии диагностики тяжелой миастении (МГ) и методы оценки МГ стандартизируются во всем мире, и в 2000 году Американский фонд МГ (MGFA) (MG Foundation of America (MGFA)) предложил классификацию MGFA для классификации симптомов МГ. Классификация MGFA также может называться категоризацией MGFA, клинической классификацией MGFA или просто MGFA. Классификация MGFA - это метод классификации, который классифицирует пациентов с МГ по наиболее тяжелому состоянию на данный момент.

В качестве шкалы оценки тяжести для количественной оценки тяжести МГ приводятся стандарты, рекомендованные для клинических исследований МГ, такие как опросник повседневной активности МГ (MG-ADL) и опросник количественной оценки тяжести клинических проявлений миастении (QMG) (Jaretzki A. *et al.*, *Neurology* 2000;55(1):16-23). Шкалу оценки MG-ADL относительно легко записать в качестве оценок тяжести. Баллы записываются в основном на основе свидетельств пациента, и оценка по каждому пункту суммируется для получения общей оценки. Общая оценка также может быть указана, как оценка MG-ADL. Шкала оценки QMG представляет индекс, который оценивает тяжесть. Оценка по каждому пункту суммируется для получения общей оценки. Для фиксации оценки QMG требуется около 20 минут, и, следовательно, это не краткий тест. При этом он обладает высокой способностью обнаруживать утомляемые мышцы, поскольку может фиксировать утомляемость глазодвигательных мышц и мышц, которые, казалось бы, обладают нормальной силой. Оценка по комплексной шкале при тяжелой

миастении (MGC) используется для оценки симптомов после терапевтического вмешательства, которое было разработано с учетом преимуществ и недостатков шкалы оценки MG-ADL и шкалы оценки QMG. Шкала оценки MGC хорошо сбалансирована по отношению к шкале оценки QMG и аналогичному, даже несмотря на то, что она допускает некоторую степень субъективных суждений врачей и, таким образом, не сложна. В дополнение к каждой из вышеуказанных шкал оценок, в Примерах будут подробно рассмотрены шкалы оценки утомляемости MG-QOL 15г и Neuro-QOL.

Эффективность фармацевтической композиции при MG можно оценить, используя вышеуказанные шкалы оценок и количественного измерения тяжести MG до и после введения фармацевтической композиции пациенту и подтверждения того, являются ли изменения в тяжести статистически значимыми. В качестве альтернативы, можно сравнить изменение или разницу между группой, получавшей фармацевтическую композицию, и группой, не получавшей препарат (плацебо). Например, тяжесть MG пациента может быть определена перед введением фармацевтической композиции, как исходное состояние, и после введения фармацевтической композиции в течение определенного периода времени тяжесть MG пациента может быть количественно оценена снова. В качестве альтернативы, в группе пациентов, получающих фармацевтическую композицию, и в группе, не получающих фармацевтическую композицию, тяжесть MG пациента может быть определена перед введением фармацевтической композиции, как исходное состояние, и после введения фармацевтической композиции в течение определенного периода времени тяжесть MG пациента может быть количественно оценена снова. Указанные выше критерии оценки MG-DL, MG, MGC, MG-QOL 15г и/или по шкале утомляемости Neuro-QOL могут быть использованы в качестве стандартов для количественной оценки. Когда в любом из вышеуказанных стандартов оценки, когда изменения в баллах или пунктах после приема по сравнению с таковыми до приема фармацевтической композиции (исходное состояние), или изменения или разница в баллах или пунктах между группами пациентов, получавших или не получавших фармацевтическую композицию, является статистически значимыми, то можно сказать, что фармацевтическая композиция является эффективной против тяжелой миастении (MG). Когда степень MG у пациента тяжелая, баллы или пункты оценки MG будут высокими, а когда

степень легкая, они будут низкими. Следовательно, желательно, чтобы изменения или разница в баллах или пунктах стандартов оценки уменьшались.

Фармацевтическая композиция по настоящему изобретению представляет фармацевтическую композицию для лечения или профилактики у пациентов с тяжелой миастенией (MG). Соответственно, фармацевтическая композиция по настоящему изобретению может быть указана, как фармацевтическая композиция, снижающая баллы или пункты шкал для оценки MG-ADL, QMG, MG-QOL 15г, шкалы оценки утомляемости Neuro-QOL, и/или MGC у пациентов, получавших фармацевтическую композицию по настоящему изобретению. Дополнительно, фармацевтическая композиция по настоящему изобретению может быть указана, как фармацевтическая композиция, которая снижает баллы или пункты шкал оценки MG-ADL, QMG, MG-QOL 15г, шкалы оценки утомляемости Neuro-QOL, и/или MGC у пациентов, получавших фармацевтическую композицию по настоящему изобретению, по сравнению с показателями (оценки или пункты), измеренными при использовании той же самой шкалы или метода оценки, полученных от пациента перед введением фармацевтической композиции по настоящему изобретению. Дополнительно, фармацевтическая композиция по настоящему изобретению может быть указана, как фармацевтическая композиция, которая снижает баллы или оценки шкал оценки MG-ADL, QMG, MG-QOL 15г, шкалы оценки утомляемости Neuro-QOL, и/или MGC у пациентов, получавших фармацевтическую композицию по настоящему изобретению по сравнению с таковыми пациентами, не получавшими фармацевтическую композицию по настоящему изобретению.

Установленный период введения фармацевтической композиции для оценки эффективности фармацевтической композиции при MG по существу не ограничивается и включает 1 неделю, 2 недели, 4 недели, 8 недели, 12 недели, 24 недели, 48 недель, 1 год, 2 года, 3 года, 4 года и 5 лет, и период может быть короче или длиннее, чем приведенный в качестве примера период.

Эффективность фармацевтической композиции при MG, которую вводят пациенту, может быть подтверждена, когда изменения или разница в баллах или пунктах любой шкалы оценки MG-ADL, QMG, MG-QOL 15г, шкалы оценки утомляемости Neuro-QOL и/или MGC является статистически значимой. Например, баллы или пункты любой шкалы оценки MG-ADL, QMG, MG-QOL 15г, шкалы оценки утомляемости Neuro-QOL и/или MGC после введения

фармацевтической композиции могут быть статистически значимо снижены по сравнению с баллами или пунктами того же метода измерения, полученными от пациента перед введением фармацевтической композиции, или от пациента, не получавшего фармацевтическую композицию, и например, включают снижение баллов или пунктов 1, 2, 3, 4, 5, или 6, но могут представлять иные баллы или пункты.

Используемый в описании настоящей патентной заявки термин «в качестве активного ингредиента» относится к ингредиенту, содержащемуся в фармацевтической композиции в качестве основного активный ингредиент, и его содержание не ограничено, если оно специально не указано, при условии, что антитела, используемые для настоящего изобретения, включены в качестве лекарственных ингредиентов.

Используемый в описании настоящей патентной заявки термин «стандартный интервал приема» относится к интервалу приема, обычно используемому для указанных выше фармацевтических средств (фармацевтические композиции по настоящему изобретению) и включает, например, интервал приема для постоянного введения, который может быть описан во вложенной в упаковку инструкции, как «подкожные инъекции с интервалом в четыре недели» и аналогичное. Стандартный интервал дозировки по настоящему изобретению по существу не ограничен, но примеры включают интервалы от 1 дня до 24 недель, предпочтительно от 2 недель до 8 недель, более предпочтительно от 3 до 5 недель и еще более предпочтительно 4 недели. Стандартные интервалы приема могут находиться в определенных пределах.

Используемый в описании настоящей патентной заявки термин «интервал приема, который короче стандартного интервала приема» относится к интервалу приема, который короче обычно используемого интервала приема (стандартного интервала приема) для фармацевтических средств (фармацевтические композиции по настоящему изобретению). Интервал приема, который короче стандартного интервала приема, по существу не ограничен, если он короче стандартного интервала приема и, например, когда стандартный интервал приема составляет 24 недели, интервал приема, который короче стандартного интервала приема, может быть короче 24 недель, например, 20 недель. Интервал приема, который короче стандартного интервала приема, предпочтительно представляет интервал, который составляет половину стандартного интервала

приема. Например, предпочтительно, когда стандартный интервал приема составляет 8 недель, интервал приема, который короче стандартного интервала приема, составляет 4 недели, и более предпочтительно, когда стандартный интервал приема составляет 4 недели, интервал приема, который короче стандартного интервала приема, составляет 2 недели. Интервалы приема, которые короче стандартных интервалов приема, могут иметь определенные пределы.

Используемый в описании настоящей патентной заявки термин «стандартная доза» относится к дозе антитела, которое представляет активный ингредиент, как правило, используемой для фармацевтических средств (фармацевтические композиции по настоящему изобретению), например, обычно вводимую дозу, которая может быть описана во вложенной в упаковку инструкции, как «обычно вводимая доза составляет 100 мг на дозу в виде антитела», обычно подкожно инъецируемая доза составляет 100 мг на дозу в виде антитела» и аналогичное. Стандартная доза по настоящему изобретению по существу не ограничена и примеры включают от 50 до 800 мг антитела на введение, предпочтительно от 120 до 240 мг антитела, и более предпочтительно от 120 мг, 180 мг или 240 мг антитела на введение.

«Стандартная доза» по настоящему изобретению может варьировать в зависимости от массы тела пациента. Например, стандартная доза на введение для пациента с массой тела 100 кг или менее может составлять 120 мг антитела, а стандартная доза на введение для пациента с массой тела более чем 100 кг может составлять 180 мг антитела; стандартная доза на введение для пациента с массой тела 100 кг или менее может составлять 120 мг антитела, и стандартная доза на введение для пациента с массой тела более чем 100 кг может составлять 240 мг антитела; и стандартная доза на введение для пациента с массой тела 100 кг или менее может составлять 180 мг антитела, и стандартная доза на введение для пациента с массой тела более чем 100 кг может составлять 240 мг антитела. Дополнительно, стандартная доза на введение для пациента с массой тела менее чем 100 кг может составлять 120 мг антитела, и стандартная доза на введение для пациента с массой тела 100 кг или более может составлять 180 мг антитела; стандартная доза на введение для пациента с массой тела менее чем 100 кг может составлять 120 мг антитела, и стандартная доза на введение для пациента с массой тела 100 кг или более может составлять 240 мг антитела; и стандартная



доза на введение для пациента с массой тела менее чем 100 кг может составлять 180 мг антитела, и стандартная доза на введение для пациента с массой тела 100 кг или более может составлять 240 мг антитела. Более предпочтительно стандартная доза на введение для пациента с массой тела 100 кг или менее (пациент с массой тела 40 кг или более и 100 кг или менее) может составлять 120 мг антитела, и стандартная доза на введение для пациента с массой тела более чем 100 кг (пациент с массой тела более чем 100 кг и 160 кг или менее) может составлять 180 мг антитела; стандартная доза на введение для пациента с массой тела 100 кг или менее (пациент с массой тела 40 кг или более и 100 кг или менее) может составлять 120 мг антитела, и стандартная доза на введение для пациента с массой тела более чем 100 кг (пациент с массой тела более чем 100 кг и 160 кг или менее) может составлять 240 мг антитела; и стандартная доза на введение для пациента с массой тела 100 кг или менее (пациент с массой тела 40 кг или более и 100 кг или менее) может составлять 180 мг антитела, и стандартная доза на введение для пациента с массой тела более чем 100 кг (пациент с массой тела более чем 100 кг и 160 кг или менее) может составлять 240 мг антитела. Дополнительно, стандартная доза на введение для пациента с массой тела менее чем 100 кг (пациент с массой тела 40 кг или более и менее чем 100 кг) может составлять 120 мг антитела, и стандартная доза на введение для пациента с массой тела 100 кг или более (пациент с массой тела 100 кг или более и 160 кг или менее) может составлять 180 мг антитела; стандартная доза на введение для пациента с массой тела менее чем 100 кг (пациент с массой тела 40 кг или более и менее чем 100 кг) может составлять 120 мг антитела, и стандартная доза на введение для пациента с массой тела 100 кг или более (пациент с массой тела 100 кг или более и 160 кг или менее) может составлять 240 мг антитела; и стандартная доза на введение для пациента с массой тела менее чем 100 кг (пациент с массой тела 40 кг или более и менее чем 100 кг) может составлять 180 мг антитела, и стандартная доза на введение для пациента с массой тела 100 кг или более (пациент с массой тела 100 кг или более и 160 кг или менее) может составлять 240 мг антитела.

Используемый в описании настоящей патентной заявки термин «стандартное введение» относится к общепринятому введению указанных выше фармацевтических средств (фармацевтические композиции по настоящему

изобретению), например, введению указанной выше «стандартной дозы» и к «стандартному интервалу приема».

Используемый в описании настоящей патентной заявки термин «период с коротким интервалом приема» относится к периоду, когда перед многократными введениями осуществляют ведение со стандартными интервалами приема, в которых доза такая же, как стандартная доза, а интервал приема короче стандартного интервала приема, и период предпочтительно составляет от 1 до 12 недель от начала введения, более предпочтительно от 2 до 8 недель и еще более предпочтительно 4 недели от начала введения. Доза, такая же, как стандартная доза, включает случай, когда концентрация антитела в крови сравнима со случаем, когда вводят стандартную дозу. Период приема с коротким интервалом может иметь определенные пределы.

По настоящему изобретению термин «многократно (вводимый) введенный» относится к двум или более введениям, включая начальное введение, и предпочтительно составляет от 2 до 5 раз, включая начальное введение, и более предпочтительно 3 раза, включая начальное введение.

По настоящему изобретению стандартный период введения начинается с последнего введения периода приема с короткими интервалами. Более конкретно, после того, как был проведен один стандартный интервал приема с момента последнего введения в период с коротким интервалом приема, проводят первое введение в течение стандартного периода введения. Например, в случае проведения 3-х введений, включая начальную дозу, в период с коротким интервалом приема, после 3-го введения истекает один стандартный интервал приема, и период, в течение которого введение осуществляется со стандартными интервалами приема, начинается с 4-го введения и далее становится стандартным периодом введения. Например, в случае, когда период с коротким интервалом приема составляет 4 недели, введение, включая начальное введение в период с коротким интервалом приема, составляет 3 раза, стандартные интервалы приема составляют 4 недели, а интервал приема, который короче стандартных интервалов приема, составляет 2 недели, начальное 2-е и 3-е введения проводят с интервалом в 2 недели в течение 4 недель, что является периодом с коротким интервалом приема, а затем 4-е введение проводят по прошествии 4 недель после 3-го введения, что составляет 1-й стандартный интервал приема, после чего введение будет осуществляться со стандартными

интервалами приема в 4 недели. Соответственно, после 3-го введения, которое является последним введением периода с коротким интервалом приема, период, при котором введение осуществляется с интервалом в 4 недели, что является стандартным интервалом приема, станет стандартным периодом введения.

Фармацевтическая композиция по настоящему изобретению предпочтительно представляет фармацевтическую композицию, введение которой осуществляют введением антитела от 2 до 5 раз в период приема с коротким интервалом от первоначального введения с интервалом от 1 до 3 недель в той же самой дозировке, как и стандартная доза, а затем после последнего введения периода приема с коротким интервалом выполняют стандартное введение с интервалом от 2 до 8 недель антитела в дозе от 50 до 800 мг на прием, что является стандартной дозой. Более предпочтительно, фармацевтическая композиция такова, что ее введение включает введение SA237 3 раза в период приема с коротким интервалом от первоначального введения с интервалом в 2 недели (то есть, введение на неделе 0, неделе 2 и неделе 4) в той же самой дозировке, как и стандартная доза, а затем после последнего введения периода приема с коротким интервалом выполняют стандартное введение с интервалом в 4 недели (то есть, продолжают с интервалом в 4 недели, считая от первоначального введения препарата с коротким интервалом на 8 неделе, 12 неделе, 16 неделе) SA237 в дозе 120 мг, 180 мг или 240 мг на прием, что является стандартной дозой.

Предпочтительную схему введения антитела по настоящему изобретению можно скорректировать, например, соответствующим продлением интервала введения путем мониторинга состояния заболевания и изменений показателей анализа крови.

Также настоящее изобретение относится к промышленному изделию (такому, как набор, устройство и аналогичное) для применения в способе по настоящему изобретению, которое содержит фармацевтическую композицию или лекарственное средство по настоящему изобретению. Фармацевтическая композиция или лекарственное средство по настоящему изобретению включает ингибитор II-6, как указано здесь. Промышленное изделие может быть упаковано с дополнительным фармацевтически приемлемым носителем или средой, или с инструкцией по эксплуатации, описывающей, как использовать набор, устройство или аналогичное и том подобное.

В одном варианте осуществления настоящего изобретения промышленное изделие включает контейнер и этикетку на упаковке или вкладыш, прилагаемый к контейнеру. Подходящие контейнеры включают, например, флаконы, ампулы, шприцы (включая предварительно заполненный шприц и шприц для самоинъекции), пакеты с раствором для внутривенного введения. Контейнеры могут быть изготовлены из различных материалов, таких как стекло или пластик. В одном варианте осуществления настоящего изобретения контейнер может содержать композицию, как таковую или в сочетании с другой композицией, эффективной для лечения, предотвращения и/или диагностики состояния, а также может иметь стерильное отверстие для доступа (например, контейнер может представлять шприц, шприц для самоинъекции, пакет с раствором для внутривенного введения или ампулу с пробкой, прокалываемой иглой для подкожных инъекций). По меньшей мере один активный ингредиент в композиции представляет ингибитор IL-6, как указано в настоящем описании, предпочтительно антитело к рецептору IL-6 и более предпочтительно сатрализумаб.

В одном варианте осуществления настоящего изобретения устройство в качестве промышленного изделия по настоящему изобретению, как указано выше, может представлять предварительно заполненный шприц для инъекции любым способом введения (таким как внутривенное, подкожное и аналогичное), который содержит фиксированную дозу ингибитора IL-6, как указано в настоящем описании, предпочтительно антитело к рецептору IL-6 и более предпочтительно сатрализумаб в фармацевтически приемлемом наполнителе. В другом варианте осуществления настоящего изобретения устройство может представлять шприц для самоинъекции для подкожного введения, который содержит фиксированную дозу ингибитора IL-6, как указано в настоящем описании, предпочтительно антитело к рецептору IL-6 и более предпочтительно сатрализумаб в фармацевтически приемлемом наполнителе. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения устройство (такое как предварительно заполненный шприц и шприц для самоинъекции) может содержать 120 мг, 180 мг или 240 мг сатрализумаба.

В одном варианте осуществления настоящего изобретения этикетка или вложенная в упаковку инструкция указывает, что фармацевтическая композиция или лекарственное средство используется для лечения выбранного состояния.

Дополнительно, промышленное изделие может включать (а) первый контейнер с содержащейся в нем композицией, где композиция содержит ингибитор IL-6, как указано выше, предпочтительно антитело к рецептору IL-6 и более предпочтительно сатрализумаб; и (б) второй контейнер с содержащейся в нем композицией, где композиция содержит дополнительный терапевтический агент. Промышленное изделие в таком варианте осуществления настоящего изобретения может дополнительно включать вложенную в упаковку инструкцию, указывающую, что композиции могут быть использованы для лечения конкретного состояния. В качестве альтернативы или дополнительно, промышленное изделие может дополнительно включать второй (или третий) контейнер, включающий фармацевтически приемлемый буфер, такой как бактериостатическая вода для инъекций (BWFI), физиологический раствор с фосфатным буфером, раствор Рингера и раствор декстрозы. Оно дополнительно может включать другие материалы, желательные с коммерческой точки зрения и с точки зрения пользователя, включая другие буферы, разбавители, фильтры, иглы и шприцы.

Используемый в описании настоящей патентной заявки термин «вложенная в упаковку инструкция» относится к инструкциям, обычно включаемых в коммерческие упаковки терапевтических продуктов, которые содержат информацию о показаниях, применении, дозировке, способе введения, комбинированной терапии, противопоказаниях и/или предупреждениях относительно применения таких терапевтических продуктов.

Фармацевтические композиции по настоящему изобретению, используемые для лечебных и профилактических целей, могут быть получены в лиофилизированных составах или составах для раствора, получаемого смешиванием, при необходимости, с фармацевтически приемлемыми носителями, разбавителями и аналогичное. Подходящие фармацевтически приемлемые носители и разбавители включают, например, стерильную воду, физиологический солевой раствор, стабилизаторы, наполнители, антиоксиданты (такие как аскорбиновая кислота), буферы (такие как фосфатный, цитратный, гистидиновый и из других органических кислот), антисептики, поверхностно-активные вещества (такие как PEG (ПЭГ) и Tween (твин)), хелатирующие агенты (такие как EDTA) и связующие вещества. Также могут содержаться другие низкомолекулярные полипептиды, белки, такие как сывороточный альбумин,

желатин и иммуноглобулины, аминокислоты, такие как глицин, глутамин, аспарагин, глутаминовая кислота, аспарагиновая кислота, метионин, аргинин и лизин, сахара и углеводы, такие как полисахариды и моносахариды, и сахарные спирты, такие как маннит и сорбит. При приготовлении водного раствора для инъекции могут быть использованы физиологический солевой раствор и изотонические растворы, содержащие глюкозу, и другие адъюванты, такие как D-сорбит, D-манноза, D-маннит, и хлорид натрия, а также может быть использована комбинация с соответствующими солюбилизующими агентами, такими как спирт (например, этанол), полиспирты (такие как пропиленгликоль и ПЭГ) и неионные поверхностно-активные вещества (такие как полисорбат 80, полисорбат 20, поллоксамер 188 и HCO-50). При смешивании состава с гиалуронидазой может быть введен больший объем жидкости подкожно (Expert Opin. Drug Deliv. Jul; 4(4): 427-440 (2007)). Дополнительно, могут быть использованы шприцы, предварительно заполненные фармацевтической композицией по настоящему изобретению. Составы растворов можно получать при использовании способа, описанного в WO2011/090088.

При необходимости фармацевтические композиции по настоящему изобретению могут быть капсулированы в микрокапсулы (*например*, таковые, полученные из гидроксиметилцеллюлозы, желатина и полиметилметакрилата), или включены в коллоидные системы доставки лекарственных средств (*например*, липосомы, микросферы из альбумина, микроэмульсии, наночастицы и нанокапсулы) (смотрите, например, «Remington's Pharmaceutical Science 16th edition», Oslo Ed. (1980)). Также известны способы получения фармацевтических агентов с контролируемым высвобождением, и такие способы можно применить к фармацевтическим композициям по настоящему изобретению (Langer *et al.*, J. Biomed. Mater. Res. 15: 267-277 (1981); Langer, Chemtech. 12: 98-105 (1982); патент США № 3,773,919; публикация Европейской патентной заявки № EP 58,481; Sidman *et al.*, Biopolymers 22: 547-556 (1983); и EP 133,988).

Фармацевтическая композиция по настоящему изобретению может быть введена пациенту любым подходящим способом. Например, она может быть введена пациенту внутривенно струйным или непрерывным вливанием, внутримышечно, внутривентриально, цереброспинально, чрезкожно, подкожно, внутрисуставно, подъязычно, в синовиальную полость, перорально, ингаляцией,

местно или наружно в течение определенного периода времени. Внутривенное или подкожное введение является предпочтительными.

Антитело по настоящему изобретению может быть использовано в составе агента, включающего это антитело для лечения или профилактики MG , или может быть использовано в способе лечения или профилактики MG , включающем введение антитела пациенту с MG . Дополнительно, антитело по настоящему изобретению может быть использовано при получении агента для лечения или профилактики MG . Дополнительно, антитело по настоящему изобретению может быть указано, как антитело для применения при лечении пациента с MG или для применения при профилактике у пациента с MG . Дополнительно, антитело по настоящему изобретению предпочтительно представляет сатрализумаб, и в частности представляет антитело, включающее переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1, и переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 2.

Все указания на предшествующий уровень техники, приведенные здесь, включены в настоящее описание ссылками.

#### Примеры

Ниже настоящее изобретение будет описано со ссылкой на конкретные, не ограничивающие Примеры.

#### Пример 1: Получение сатрализумаба (SA237)

SA237, представляющий рецептор антитела IL-6, описанный в патентном документе WO 2010/035769 (антитело, содержащее тяжелую цепь, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 26 (SEQ ID NO: 3 в настоящем описании) и легкую цепь, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 29 (SEQ ID NO: 4 в настоящем описании) в патентном документе WO 2010/035769), получали согласно описанию патентного документа.

Аминокислотная последовательность переменной области тяжелой цепи показана в SEQ ID NO: 1, а аминокислотная последовательность переменной области легкой цепи показана в SEQ ID NO: 2. Полученные антитела использовали для получения состава для подкожного введения при использовании способа, описанного в патенте WO 2011/090088.

Пример 2: III Фаза многоцентрового рандомизированного двойного слепого плацебо-контролируемого исследования

План исследования

1. Описание исследования

III Фаза многоцентрового рандомизированного двойного слепого плацебо-контролируемого исследования предназначена для оценки эффективности, безопасности, фармакокинетики и фармакодинамики сатрализумаба по сравнению с плацебо в качестве дополнительной терапии к стандартному лечению (SOC) для лечения генерализованной тяжелой миастении (генерализованной MG или гMG). Исследование включает 24-недельный период двойного слепого исследования (DB) и период открытого расширенного исследования (OLE).

Краткое изложение плана исследований приведено на Фигуре 1.

1.1 Период двойного слепого исследования

В течение периода двойного слепого лечения пациенты рандомизируются в соотношении 1:1 для приема 120 мг, 180 мг или 240 мг сатрализумаба в зависимости от массы тела (группа А) или плацебо (группа Б) в течение 24 недель. Рандомизация стратифицируется на основе базовой стандартной терапии (SOC), типе аутоантитела и региона в качестве факторов стратификации.

Замаскированный исследуемый препарат вводится подкожно пациентам на 0, 2, 4 неделях и далее каждые четыре недели до конца периода DB в дополнение к SOC в стабильной дозе. В течение периода DB проводится промежуточный анализ фармакокинетических данных (PK). На основании результатов промежуточного PK-анализа и заранее установленных критериев определяют, будет ли увеличена доза исследуемого препарата. Если будет установлено, что они повышены, то группе А вводят либо 180 мг, либо 240 мг сатрализумаба.

Базовой терапией, разрешенной в этом исследовании, являются только ингибиторы антихолинэстеразы (AChEI) или следующие методы лечения (с AChEI или без AChEI): пероральные кортикостероиды (OCS), одна иммунодепрессантная терапия (IST) и OCS в сочетании с одной IST.

Разрешенными препаратами IST являются, например, азатиоприн (azathioprine), микофенолата мофетил (mycophenolate mofetil), циклоспорин А и такролимус (tacrolimus), но не ограничиваются ими.



### 1.2 Период открытого расширенного исследования

Пациенты, завершившие период DB, могут перейти в период OLE. По завершении оценки на 24-й неделе все пациенты получают открытое лечение сатрализумабом.

В период OLE все пациенты получают открытое лечение сатрализумабом в дозе 120, 180 или 240 мг .

По решению исследователя снижение дозы (постепенное снижение дозы) базовой терапии (OCS, IST и/или AChEI) может быть начато на 12-й неделе или позже в период OLE.

### 1.3 Внеплановые визиты и неотложная терапия

Внеплановые визиты могут быть проведены по усмотрению лечащего невролога. Если во время исследования возникает подозрение на обострение гMG , участнику необходимо вернуться в центр исследования и пройти оценку тяжести гMG до или сразу после получения неотложной терапии.

Неотложная терапия включает внутривенную иммуноглобулиновую терапию (IVIg) и плазмообменную терапию (PE) с высокими дозами кортикостероидов или без них. Выбор неотложной терапии определяется исследователем на основании общей клинической оценки.

Пациенты, получившие неотложную терапию в период DB, могут получить введение сатрализумаба в период OLE после завершения периода DB.

### 1.4 Обследуемые пациенты и регионы исследования

Исследование проводится в странах, включая без ограничения: Северную Америку, Европу, Латинскую Америку и Азию.

В этом исследовании приняли участие около 240 пациентов, включая около 20 подростков в возрасте от 12 до 17 лет с гMG . Основные критерии отбора/исключения приведены ниже.

#### Критерии отбора

- Пациенты в возрасте 12 лет и старше на момент получения согласия
- Пациенты с диагностированной тяжелой миастенией с генерализованной мышечной слабостью, которая соответствует классу тяжести II, III или IV по классификации Американского фонда Тяжелой миастении (MGFA).  
Диагностическое подтверждение должно быть продемонстрировано и подтверждено положительным тестом сыворотки на один из трех типов антител, AChR антитело, MuSK антитело и Lrp4антитело во время скрининга.

- Пациенты с общим баллом MG-ADL 5 или выше и не менее половины баллов, связанных с неглазными симптомами.

- Пациенты, которые могут получить неотложную терапию (иммуноглобулиновую терапию (IVIg), плазмообменную терапию (PE) и терапию высокими дозами кортикостероидов).

- Пациенты, получившие до включения в исследование стабильные дозы лечения тяжелой формы тяжелой миастении (азатиопурин, мофетил микофенолат, циклоспорин А, тахлоримус, пероральные кортикостероиды (ОС) или ингибиторы антихолинэстеразы (АChEI)).

[Критерии исключения]

- Пациенты с кистой тимуса, тимомой или другим новообразованием тимуса в анамнезе (согласно классификации ВОЗ для опухолей тимуса (2015 года)) исключаются, за исключением случаев, когда считается, что они излечились с помощью соответствующего лечения, и не наблюдается рецидив в течение пяти лет или более до скрининга.

- Исключаются пациенты после тимэктомии менее двенадцати месяцев.

- Исключаются пациенты с миастеническим кризом (V класс по MGFA) в анамнезе в течение последних трех месяцев.

## 2. Продолжительность клинического исследования

Общая продолжительность исследования от первого скрининга пациентов до окончания периода OLE оценивается около в четыре года.

## 3 Обоснование плана исследования

### 3.1 Обоснование дозы и схемы применения сатрализумаба

В этом исследовании для изучения эффективности и безопасности сатрализумаба при гMG используется дозирование по массе путем подкожной инъекции, как показано в Таблице 1.

Таблица 1 .

Схема применения в III Фазе исследования сатрализумаба для лечения генерализованной тяжелой миастении

Масса тела на момент включения в исследование <sup>a</sup>	Доза и схема применения
100 кг или менее	120 мг вводят на 0, 2, 4 неделе и Q4W после этого путем подкожной инъекции.
Более чем 100 кг	180 мг вводят на 0, 2, 4 неделе и Q4W после этого путем подкожной инъекции.

Q4W: Каждые четыре недели.

<sup>a</sup>: В случае изменения массы тела отдельного пациента рекомендуется включить его/ее в другую группу приема. Смотрите Таблицу 2.

Схема применения основана на комбинации источников информации, включая следующие:

Данные PK, PD и данные безопасности сатрализумаба при начальном развитии расстройства оптического спектра нейромиеелита (ЗСОНМ); и

Учет различий в демографии населения.

Схема приема 120 мг фиксированной дозы, исследовавшийся на Фазе III исследований ЗСОНМ, была ассоциирована с высокой прогнозируемой медианной минимальной занятостью рецептора (95% или больше) при равновесных значениях ( $RO_{tr,ss}$ ) у большинства пациентов, и было показано, что она безопасна и эффективна во всех группах массы тела. Несколько пациентов с прогнозируемыми значениями  $RO_{tr,ss}$  менее 80%, как правило, имели исходную массу тела более 100 кг.

Реальные данные из большого массива данных отделений неотложной помощи США, включающие 58 860 пациентов с кодом MG, позволяют предположить, что около 30% пациентов в этой популяции могут иметь массу тела более 100 кг. Ожидается, что воздействие, подобное таковому при ЗСОНМ, будет эффективным и при гMG, поэтому моделирование было проведено при использовании существующей модели популяционной PK (pop-PK) для оценки дозы, необходимой для достижения тех же максимальных значений  $RO_{tr,ss}$ , достигнутых у пациентов с ЗСОНМ на протяжении всего интервала доз для пациентов с гMG в ожидаемых пределах массы тела.

Прогнозируемые значения максимальной наблюдаемой концентрации ( $C_{max}$ ), минимальной концентрации ( $C_{trough}$ ) и показатели RO в сыворотке после введения 120 мг каждые четыре недели и 180 мг каждые четыре недели у пациентов с массой тела 100 кг или менее и более 100 кг, соответственно, показаны на Фигуре 2. Было высказано предположение, что аналогичный RO может быть достигнут введением 180 мг пациентам с массой более 100 кг по сравнению с введением 120 мг пациентам с массой 100 кг или менее. Кроме того, воздействие при введении 180 мг пациентам с массой тела более 100 кг находилось в пределах воздействий при введении 120 мг, безопасность которых подтверждена в исследованиях III фазы у пациентов с ЗСОНМ. Плановое

исследование включает промежуточный анализ РК для подтверждения того, что достигнуты целевые воздействия и RO.

Благоприятный профиль безопасности сатрализумаба был продемонстрирован в программе ЗСОНМ, что подтверждает нацеленность на аналогичные воздействия в этом исследовании. Однако воздействия ниже целевых пределов могут потребовать увеличения дозы для оптимизации блокады IL-6 на протяжении всего интервала приема в ожидаемых пределах массы тела. Поэтому в план исследования включена возможность повышения дозы (при необходимости для всех пределов массы тела). Подробности приведены в разделе 3.11.

Хотя было показано, что большинство оценок параметров РК для сатрализумаба очень схожи между здоровыми взрослыми (HV) и пациентами с ЗСОНМ, наблюдались популяционные различия в общем клиренсе препарата (CL) (значение коварианта [95% CI] при HV 95,8% [от 67,5 до 124,1]). Следовательно, РК моделирование использовалось для изучения потенциально полезных схем, предполагая случай, когда CL в популяции гMG был аналогичен CL в популяции HV. Модели, представленные на Фигуре 3, показывают, что в этом случае можно ожидать, что схема применения 180 мг и 240 мг (схема 180/240 мг) для пациентов с массой тела 100 кг или менее и более 100 кг, соответственно, будет поддерживать целевой уровень RO во всех пределах массы тела. Доза адаптируется к этой схеме с более высокими дозами применения, если CL в гMG отражает CL в популяции HV.

Модели РК используется как часть промежуточного анализа РК для подтверждения возможности достижения при использовании первоначально предложенных доз целевого воздействия, или следует адаптировать дозу к схеме 180 мг или 240 мг. В любом случае ожидается, что выбранная схема применения не будет существенно превышать дозу, безопасность которой подтверждена в исследованиях III фазы на пациентах с ЗСОНМ.

### 3.2 Обоснование базовой терапии

В исследование включены пациенты, получающие стабильную дозу базовой терапии. Базовая терапия SOC, разрешенная в исследовании, представляет следующее:

AChEI

OCS

одну IST

OCS в комбинации с одной IST

Одновременное применение AChEI разрешено пациентам, получающим стабильную дозу OCS, одну IST и OCS в сочетании с одной IST.

Комбинированная схема лечения IST и/или OCS была выбрана на основании того, что она является наиболее распространенным методом лечения гMG во всем мире и в соответствии с международным консенсусным руководством по лечению MG (Sanders *et al.*, Neurology 2016; 87: 419- 25).

### 3.3 Обоснование первичного критерия эффективности: шкала для оценки повседневной активности при тяжелой миастении МГ (MG-ADL)

Основной целью данного исследования является сравнение эффективности сатрализумаба, добавленного к SOC, и плацебо, добавленного к SOC, с использованием MG-ADL в качестве основного показателя результата. Образец опросника MG-ADL показан на Фигуре 5.

MG-ADL был разработан Вулфом (Wolfe) и его коллегами (Neurology 1999; 52: 1487-9) для оценки степени симптомов гMG (шесть пунктов: диплопия, птоз, трудности с жеванием, глотанием, разговором и дыхательные проблемы) и функциональные ограничения при выполнении повседневной деятельности (два пункта: неспособность чистить зубы или расчесывать волосы и нарушение способности вставать со стула), которые, как было показано, присутствуют и клинически значимы у пациентов с гMG. Каждый из восьми пунктов оценивается по шкале от 0 до 3 баллов, что дает общий балл от 0 до 24, и более высокие баллы указывают на большую тяжесть заболевания (Фиг. 5). Все пункты MG-ADL были взяты из исходного списка симптомов из 13 пунктов, который включает в себя оценочную шкалу QMG.

Были охарактеризованы психометрические свойства MG-ADL. Валидность конструкции была показана путем демонстрации корреляций с QMG ( $r=0,58$ ; Wolfe *et al.*, Neurology 1999; 52: 1487-9), показателем оценки MGC ( $r=0,85$ ) и показателем оценки MG-QOL 15r ( $r=0,76$ ) (Muppidi *et al.*, Muscle Nerve 2011; 44: 727-31). Надежность тестирования/ретестирования была продемонстрирована на небольшой выборке ( $n=26$ ) пациентов с двумя повторными оценками, разделенными интервалом от 2 до 4 дней, что показало высокую степень воспроизводимости ( $r=0,94$ ) (Muppidi *et al.*, Muscle Nerve 2011; 44): 727-31).

Ввиду важности субъективной обратной связи пациентов из-за изменчивого характера заболевания и установленных психометрических свойств, включая хорошую достоверность содержания, связанную с функционированием пациентов в повседневной жизни, MG-ADL является подходящим показателем первичного результата. Шкала MG-ADL использовалась в качестве первичного показателя результата недавно завершеного (Howard *et al.*, Lancet Neurol 2017; 16: 976-86) и III фазы текущих рандомизированных плацебо-контролируемых исследований гMG (NCT03669588, NCT03971422, NCT03920293, NCT04115293 и NCT03304054).

#### 3.4 Обоснование вторичного критерия эффективности

QMG, MG-QOL 15г, шкала оценки утомляемости NeuroQOL и MGC были выбраны в качестве вторичных конечных точек для сравнения эффективности сатрализумаба, добавленного к SOC, и плацебо, добавленного к SOC.

QMG представляет оценку тяжести симптомов гMG из 13 пунктов, основанную на клиническом обследовании (Tindall *et al.*, N Engl J Med 1987; 316: 719-24). Он использовался в клинических испытаниях с 1983 года, когда он был впервые разработан для изучения взаимосвязи между связыванием AChR-Ab и тяжестью заболевания (Besinger *et al.*, Neurology 1983; 33: 1316-21). В последнее время QMG использовался в качестве ключевого вторичного показателя результата недавно завершившегося исследования экулизумаба при гMG (Howard *et al.*, Lancet Neurol 2017; 16: 976-86) и III фазе всех текущих рандомизированных плацебо-контролируемых исследованиях гMG (NCT03669588, NCT03971422, NCT03920293, NCT04115293 и NCT03304054). Образец опросника QMG показан на Фигуре 6.

QMG позволяет оценить тяжесть симптомов в диапазоне от 0 до 3 баллов для птоза, диплопии, слабости круговой мышцы глаза, глотания, нарушения речи, процента форсированной жизненной емкости легких, выносливости рук и ног (четыре пункта), силы хвата (два пункта) и силы сгибания шеи, в результате чего общая оценка варьируется от 0 до 39 баллов, при этом более высокие значения указывают на более серьезные симптомы (Tindall *et al.*, N Engl J Med 1987; 316: 719-24).

Психометрические свойства QMG изучались с использованием данных, как наблюдений, так и клинических исследований. QMG имеет приемлемую внутреннюю согласованность ( $\alpha$  Кронбаха = 0,74) и надежность

тестирования/ретестирования (коэффициент внутрикласовой корреляции [ICC] = 0,88) у клинически стабильных пациентов (Barnett *et al.*, J Neuromuscular Disease 2015; 2: 301-11). Исследования конструктивной валидности QMG выявили корреляцию с показателем оценки MGFA ( $r^2 = 0,54$ ) и показателем оценки MG-QOL 15 ( $r = 0,41$ ) (Barnett *et al.*, J Clin Neuromuscular Dis. 2012; 13: 201-5).

В этом исследовании оценивается эффективность сатрализумаба, добавленного к SOC, по сравнению с плацебо, добавленного к SOC, сравнением изменения с исходным уровнем оценки QMG на 24-й неделе (конец периода DB).

MGC является дополнительным вторичным критерием эффективности в этом исследовании. Как следует из названия, MGC представляет комплексную оценку, состоящую из пунктов, взятых из MG-ADL (жевание, глотание, речь и дыхание), QMG (диплопия и птоз) и мануального мышечного теста (сила мышц бедер, шеи, лица и дельтовидной мышцы), чтобы включить в единый критерий данные, сообщаемые врачами и пациентами (Burns *et al.*, Muscle and Nerve 2008; 38: 957-63). Десять пунктов составляют общую оценку от 0 до 50 баллов, более высокие значения указывают на усиление тяжести симптомов. Образец опросника MGC показан на Фигуре 7. Психометрические свойства MGC оценивались в медицинских организациях и учреждениях первичного звена здравоохранения у 175 пациентов в 11 центрах (Burns *et al.*, Neurology 2010; 74: 1434-40). Надежность тестирования/ретестирования оказалась высокой (коэффициент корреляции 0,98) в небольшой выборке пациентов из одного центра ( $n=38$ ). MGC продемонстрировал конвергентную достоверность от умеренной до сильной с общим баллом MG-ADL ( $r = 0,85$ ), общим баллом MG-QOL 15 ( $r = 0,68$ ) и мануальным мышечным тестом ( $r = 0,8$ ).

Поскольку MGC имеет удовлетворительные психометрические свойства и основан на сообщениях, как врачей, так и пациентов, Медицинский научно-консультативный совет Американского фонда тяжелой миастении (Medical Scientific Advisory Board of the Myasthenia Gravis Foundation of America) рекомендовал применение MGC в рандомизированных клинических исследованиях потенциально новых методов лечения гMG (Benatar *et al.* 2012).

В качестве одной из целей исследования вторичной эффективности в этом исследовании оценивается эффективность сатрализумаба, добавленного к SOC, по сравнению с плацебо, добавленного к SOC, сравнением изменения с

исходным уровнем показателя оценки MGC на 24-й неделе (конец периода исследования DB).

MG-QOL 15 - это показатель QOL, связанный с состоянием здоровья при конкретном заболевании, который состоит из 15 пунктов: мобильность (9 пунктов), симптомы (3 пункта), а также удовлетворенность и эмоциональное благополучие (3 пункта). Пункты оцениваются по шкале Лайкерта (Likert) от 0 до 4 баллов с общим баллом от 0 до 60, и более высокие общие баллы указывают на более низкое качество жизни HRQoL (Burns *et al.*, 2008). MG-QOL 15 имеет высокую надежность внутренней согласованности ( $\alpha$  Кронбаха = 0,89) и надежность тестирования/ретестирования (ICC = 0,98) (Burns *et al.*, 2011). В недавнем клиническом исследовании микофенолата мофетила при гMG показатель оценки MG-QOL 15 хорошо коррелировал с физическими и психическими пунктами Краткого опросника качества жизни из 36 пунктов, а также с показателями, специфичными для MG (QMG, MG-ADL) (Burns *et al.*, Muscle and Nerve 2008; 38: 957-63).

MG-QOL 15 также продемонстрировал свою надежность в рандомизированном контролируемом исследовании IVIg по сравнению с PE. В исследовании состояние респондентов, ответивших на лечение, улучшилось в среднем на девять пунктов по сравнению с теми, кто не ответил на лечение, у которых состояние изменилось на два пункта, что позволяет предположить, что снижение MG-QOL 15 на семь или более пунктов коррелирует с улучшением в подгруппе от умеренного до тяжелого течения MG (оценка QMG менее 11) (Barnett *et al.*, 2013). Минимальное важное различие до конца не определено. В виду широкого использования, MG-QOL был недавно модифицирован для улучшения характеристик некоторых пунктов (Burns *et al.*, 2016). В модифицированной версии (MG-QOL 15r) пределы баллов по 15 пунктам были изменены от 0-4 до 0-2 баллов на основе анализа Раша (Rasch). Итоговые баллы варьируют от 0 до 30, а более высокие баллы указывают на более низкое качество жизни, связанное со здоровьем. По сравнению с исходной шкалой модифицированная версия имеет лучшие психометрические свойства, чем оригинал, и ее очень легко использовать (Burns *et al.*, 2016). Образец опросника MG-QOL 15r показан на Фигуре 8.

Шкала утомляемости Neuro-QOL представляет краткую форму, которая является частью набора инструментов и тестов, разработанного в рамках



инициативы Национального института неврологических расстройств и инсульта (National Institute of Neurological Disorders and Stroke) для оценки качества жизни взрослых и детей с диагностированной неврологической патологией (Cella *et al.*, *Neurology* 2012; 78: 1860-7). Она состоит из восьми пунктов, каждый из которых использует пятиуровневую шкалу Лайкерта от 1 (никогда) до 5 (всегда), с 7-дневным периодом оценки. Измерение продемонстрировало высокую надежность внутренней согласованности (коэффициент  $\alpha$  Кронбаха = 0,97) и конструктивную валидность (смотрите, например, Cella *et al.*, *Neurology* 2012; 78: 1860-7). Образец шкалы утомляемости Neuro-QOL показан на Фигуре 9.

Недавно была проведена оценка по этой шкале пациентов с MG при использовании наблюдаемой когорты из 257 пациентов, получавших либо IVIg/PE, либо преднизолон (Tran *et al.*, *Muscle Nerve* 2018; 58: 197-203). Результаты продемонстрировали положительную связь между утомляемостью и тяжестью MG. Пациенты II и III классов MGFA демонстрировали утомляемость от легкой до умеренной степени, тогда как пациенты IV класса испытывали сильную утомляемость. Было показано, что оценки утомляемости положительно коррелируют с индексом нарушения MG, QMG, MGC и MG-ADL ( $r=0,52-0,69$  по Пирсону), что указывает на приемлемую конвергентную валидность (Tran *et al.*, *Muscle Nerve* 2018; 58: 197-203). Во всех группах лечения наблюдалось значительное снижение утомляемости на четвертой неделе по сравнению с исходным уровнем, стандартизированное среднее значение ответа (SRM) для всей популяции составило 0,49, что позволяет предположить, что этот показатель имеет хороший отклик (Tran *et al.*, 2018, *Muscle Nerve* 2018; 58: 197-203).

Шкала утомляемости Neuro-QOL также использовалась в недавнем исследовании REGAIN по применению экулизумаба у пациентов с MG (Andersen *et al.*, *Qual Life Res.* 2019; 28: 2247-54).

### 3.5 Вторичный анализ данных пациентов, ответивших на лечение

В качестве целей исследования вторичной эффективности проводится анализ подтверждающего ответа по общим баллам оценок по шкалам MG-ADL, QMG и MGC.

Они включают без ограничения следующее:

Изменение общего балла MG-ADL по сравнению с исходным уровнем и доли пациентов со снижением на несколько пунктов или более от исходного уровня в общей популяции или в популяции, где не проводилась неотложная терапия.

Изменение общего балла QMG и доли пациентов со снижением на несколько пунктов или более от исходного уровня в общей популяции или в популяции, где не проводилась неотложная терапия.

Изменение общего балла MGC и доли пациентов со снижением на несколько пунктов или более от исходного уровня в общей популяции или в популяции, где не проводилась неотложная терапия

Изменение общего балла 15г и доли пациентов со снижением на несколько пунктов или более от исходного уровня в общей популяции или в популяции, где не проводилась неотложная терапия.

Изменение общего балла оценки по шкале утомляемости Neuro-QOL и доли пациентов со снижением на несколько пунктов или более от исходного уровня в общей популяции или в популяции, где не проводилась неотложная терапия.

### 3.6 Обоснование открытого расширенного исследования

После 24-недельного периода DB исследование включает период OLE продолжительностью около 2 лет от последнего пациента в глобальном исследовании. Целью OLE является оценка долгосрочной безопасности и эффективности сатрализумаба, включая снижение уровня стероидов/IST у пациентов с гMG .

В этом исследовании участвуют пациенты, получающие стабильную базовую терапию, включая OCS и IST, указанные в разделе «1.1 Двойной слепой период».

Длительное лечение стероидами связано с многочисленными побочными эффектами во многих системах органов, включая кости (остеопороз, аваскулярный некроз), мышцы (миопатия), обмен веществ и эндокринные органы (увеличение массы тела, нарушение толерантности к глюкозе, гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковая супрессия), кожу (атрофия кожи, угри, стрии), глаза (глаукома, катаракта), поведение и настроение (расстройства настроения, бессонница), сердечно-сосудистую систему (гипертония, задержка

жидкости, нарушения сывороточных липопротеинов), желудочно-кишечную систему (гастрит, язвенная болезнь) и иммунную систему (повышенный риск заражения).

Одной из ключевых целей лечения MG является снижение воздействия стероидов (Sanders *et al.*, *Neurology* 2016; 87: 419-25; Jaretzki *et al.*, 2000 *Neurology* 2000; 55: 16-23). Профиль нежелательных явлений стероидсберегающей IST, которая составляет базовую терапию в этом исследовании, включает почечную токсичность при применении циклоспорина, миелосупрессию, инфекции, токсичность для печени и злокачественные новообразования (Vodopivec *et al.*, 2014 *Semin Neurol* 2014; 34: 467-78; Collins *et al.*, 2019 *Dermatol Clin* 2019; 37: 83-94).

На или после 12-й недели периода OLE разрешено снижение дозы стероидов и IST базовой терапии на основании клинического заключения.

Возможность успешного снижения дозы стероидов или IST при одновременном приеме сатрализумаба у пациентов оценивается в период OLE на основе анализов, предварительно указанных в плане статистического анализа (Statistical Analysis Plan) (SAP).

### 3.7 Обоснование оценки биомаркеров

В этом исследовании оценивается возможность использования биомаркеров, измеренных на исходном уровне, для выявления пациентов, которые могут получить клиническую пользу от лечения сатрализумабом, или для дифференцированного определения прогрессирования заболевания. В исследовании также оценивается возможность биомаркеров помочь охарактеризовать механизм действия сатрализумаба при гMG, предоставить доказательства активности сатрализумаба при гMG или расширить знания и понимание биологии заболеваний гMG.

Образцы поисковых биомаркеров используются в исследовательских целях для идентификации биомаркеров пути и/или заболевания (включая, без ограничения биомаркеры, отражающие воспаление, субпопуляции В- и Т-клеток, активность и продукты (например, сывороточный IL-17) и субпопуляции В-клеток в крови)).

Образцы биомаркеров PD собираются для оценки связывания с мишенью (например, IL-6 и sIL-6R) в ответ на лечение сатрализумабом.

### 3.8 Обоснование схемы сбора образцов РК

Образцы для оценки концентрации сатрализумаба в сыворотке отбираются перед каждым введением в течение периода DB и до 24 недели периода OLE, и каждые 12 недель в течение оставшейся периода лечения для изучения фармакокинетики сатрализумаба в популяции гMG после более длительного лечения.

Эта оценка включает влияние ряда ковариат на воздействие (например, пол, раса, возраст и масса тела), а также взаимосвязь между воздействием и PD, эффективностью, иммуногенностью и конечными точками безопасности.

### 3.9 Обоснование промежуточного анализа РК

Дозировка и введение в III фазе исследования, проведенной на пациентах с ЗСОНМ, были определены на основе I фазы исследования, и в III фазе исследования был показан хороший профиль эффективности/безопасности. Хотя аналогичный подход к выбору дозы предлагается для III фазы этого исследования при гMG, спонсор учитывает, что существуют популяционные различия в фармакокинетики сатрализумаба, и поэтому предлагаемый план III фазы исследования при гMG включает проведение промежуточного анализа РК. Промежуточный анализ РК проводится для того, чтобы гарантировать, что пациенты достигают целевого воздействия, при этом для спонсора сохраняется маскировка, что позволяет сохранить целостность этого базового исследования.

Промежуточный анализ данных РК проводится после того, как около 60 пациентов завершили не менее 8 недель лечения DB (включая около 30 пациентов из группы сатрализумаба). Целью промежуточного анализа является оценка достижения воздействия сатрализумаба (и прогнозируемого RO) в прогнозируемых пределах. Применение существующей модели RO для прогнозирования RO в этом промежуточном анализе считается целесообразным, поскольку мишень одинакова для обоих показателей, и для гMG ожидается аналогичная целевая экспрессия.

Количество случаев, предложенное для этого промежуточного анализа РК, подтверждается моделированием РК, представленным на Фигуре 10. Предполагая, что CL у пациентов с гMG аналогичен CL, наблюдаемому, как у здоровых взрослых, так и у пациентов с ЗСОНМ, считается, что промежуточный анализ РК у около 30 пациентов может обнаружить увеличение CL.

На протяжении всего исследования и, следовательно, для промежуточного анализа РК, в него включаются пациенты с разными пределами массы тела в пропорциях, примерно репрезентативных для общей популяции гMG . Процедура принятия решения о дозировке и введении определяется в плане статистического анализа до начала исследования. Данные РК, полученные от пациентов с гMG , включаются в существующую популяционную фармакокинетическую модель для обновления модели, а полученные прогнозируемые воздействия и RO сравниваются с заданными критериями для определения оптимальной дозы. Если целевые воздействия не достигаются, то дозу увеличивают по заранее установленной схеме применения 180 MG и 240 MG для пациентов с массой тела 100 кг или менее и более 100 кг, соответственно. Обоснование дозировки и введения в случае, когда значения CL при гMG отражают значения CL в HV (которые выше, чем в популяции ЗСОНМ), как описано в разделе 3.1.

#### 3.10 Обоснование сбора проб на иммуногенность

Антитела к сатрализумабу (ADA) были выявлены у значительной части пациентов с ЗСОНМ, включенных в III фазу исследования, причем были получены данные, указывающие на положительную корреляцию вероятности развития ADA с низким воздействием и большей массой тела. Однако во всех группах по массе тела в III фазе этих исследований была продемонстрирована одинаковая клинически значимая эффективность.

Образцы сыворотки на ADA отбираются параллельно с образцами РК для оценки частоты встречаемости и профиля титра ADA в популяции с гMG , а также влияние на воздействие сатрализумаба. Данные ADA включены в слепой обзор РК данных на 8-й неделе с целью интерпретации данных о концентрации сатрализумаба, а также включены в последующий анализ на основе полного набора данных исследования.

#### Промышленная применимость

Настоящее изобретение может обеспечить фармацевтические композиции для лечения или профилактики тяжелой миастении с механизмом действия, отличным от механизма действия существующих лекарственных средств.

## ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Фармацевтическая композиция для лечения или профилактики пациента с тяжелой миастенией, включающая в качестве активного ингредиента:

(i) антитело, включающее CDR1 тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 5, CDR2 тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 6, CDR3 тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 7, CDR1 легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 8, CDR2 легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 9, и CDR3 легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 10;

(ii) антитело, включающее вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 2; или

(iii) антитело, включающее тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 3, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 4,

где пациент представляет пациента с наличием антител к ацетилхолиновым рецепторам (AChR), с наличием антител к специфической мышечной тирозинкиназе (MuSK), или с наличием антител к белку 4, связанному с рецепторами липопротеинов низкой плотности (Lrp4).

2. Фармацевтическая композиция по п. 1, где антитело представляет сатрализумаб.

3. Фармацевтическая композиция по п. 1 или п. 2, где пациент с тяжелой миастенией представляет пациента с наличием антител к MuSK или с наличием антител к Lrp4.

4. Фармацевтическая композиция по любому из п.п. 1 - 3, где пациент с тяжелой миастенией представляет собой пациента с диагностированной тяжелой миастенией, проявляющей генерализованную мышечную слабость, которая

подпадает под II, III или IV класс клинической классификации Американского фонда тяжелой миастении (Myasthenia Gravis Foundation of America) (MGFA).

5. Фармацевтическая композиция по любому из п.п. 1 - 3, где пациент с тяжелой миастенией представляет собой пациента с общей оценкой по шкале повседневной активности миастении (MG-ADL), равной 5 или выше, и при которой половина или более баллов связаны с неглазными симптомами

6. Фармацевтическая композиция по любому из п.п. 1 - 3, где тяжелая миастения представляет собой генерализованную тяжелую миастению.

7. Фармацевтическая композиция по любому из п.п. 1 - 3, которая снижает оценку по шкале MG-ADL.

8. Фармацевтическая композиция по любому из п.п. 1 - 3, которая снижает оценку по шкале количественной оценки тяжелой миастении (QMG), оценку по 15-бальной шкале оценки качества жизни при тяжелой миастении (MG ) (пересмотренная) (MG-QOL 15r), оценку по шкале краткой формы оценки качества жизни и уровня утомляемости у лиц с неврологическими расстройствами (шкала утомляемости Neuro-QOL) или шкале комплексной оценки тяжелой миастении (MGC).

9. Фармацевтическая композиция по любому из п.п. 1 - 8, где доза антитела для пациента с массой тела 100 кг или менее составляет 120 мг/введение, и доза антитела для пациента с массой тела более чем 100 кг составляет 180 мг /введение.

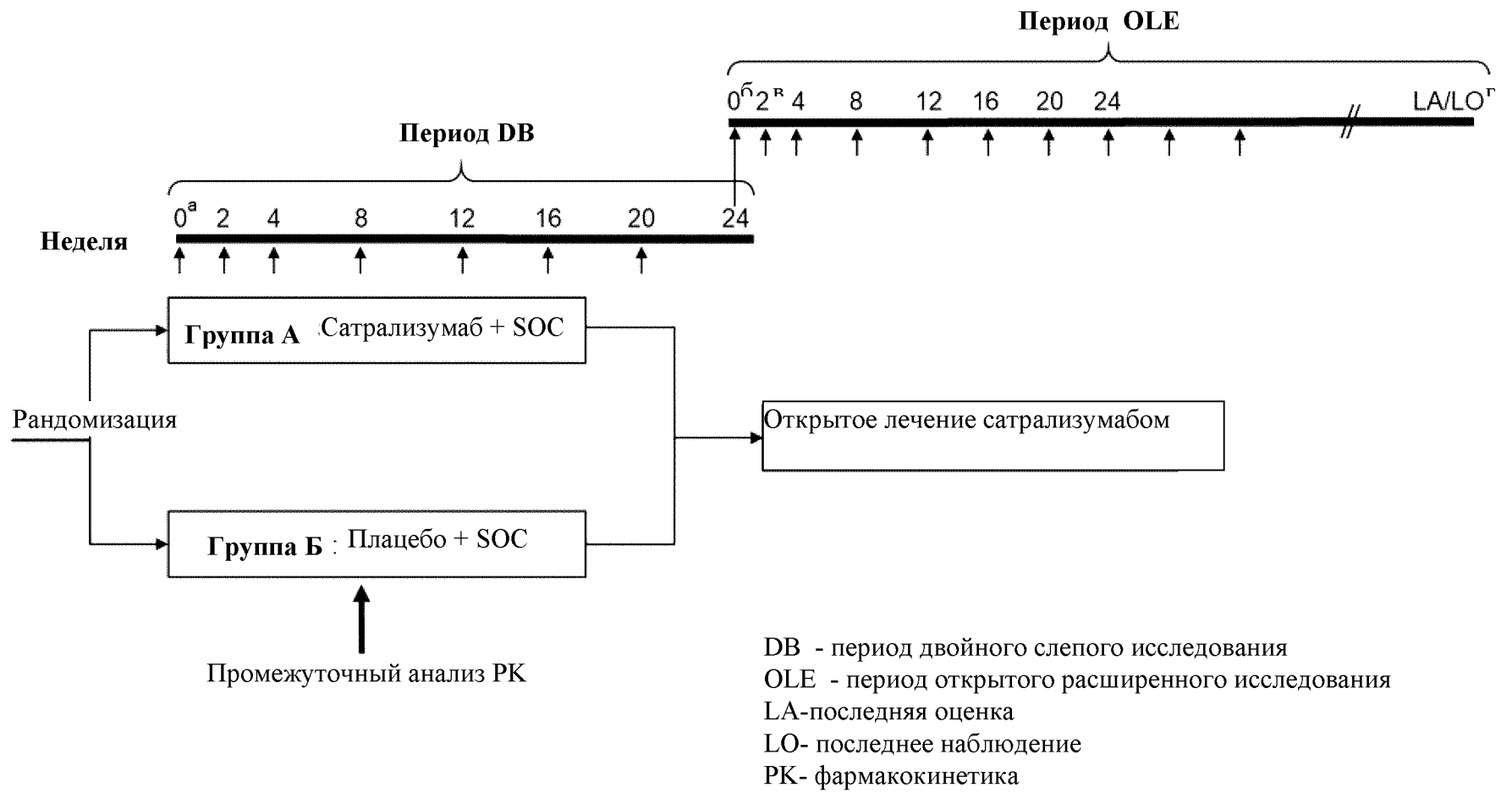
10. Фармацевтическая композиция по любому из п.п. 1 - 8, где доза антитела для пациента с массой тела 100 кг или менее составляет 120 мг /введение, и доза антитела для пациента с массой тела более чем 100 кг составляет 240 мг /введение.

11. Фармацевтическая композиция по любому из п.п. 1 - 8, где доза антитела для пациента с массой тела 100 кг или менее составляет 180 мг

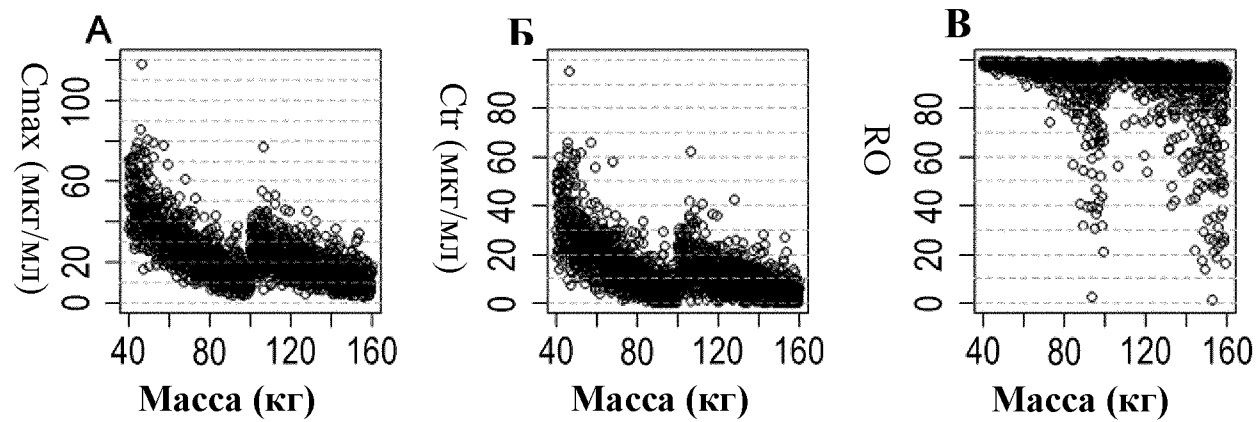
/введение, и доза антитела для пациента с массой тела более чем 100 кг составляет 240 мг /введение.

12. Фармацевтическая композиция по любому из п.п. 1 - 11, где композицию вводят со стандартным интервалом приема после периода с коротким интервалом приема, во время которого композицию вводят в той же самой дозировке, что и стандартную дозу при многократном введении в интервале приема, который короче стандартного интервала приема.



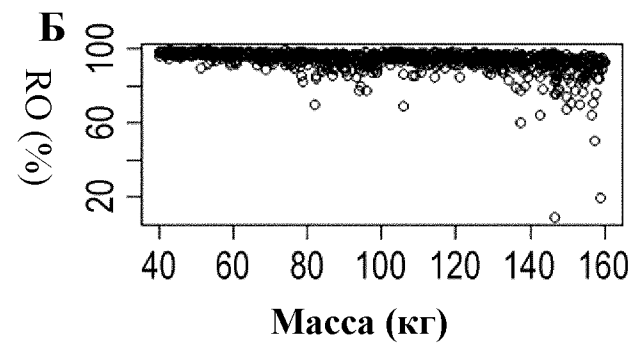
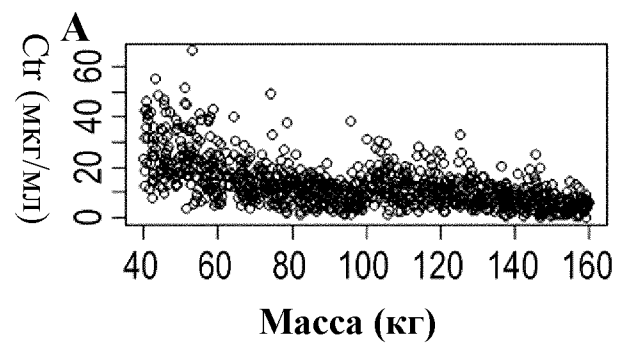


ФИГ. 1



$C_{\max}$  - максимальная концентрация  
 $C_{\text{trough}}$  - минимальная концентрация  
 RO - занятость рецептора в равновесном состоянии

ФИГ. 2



ФИГ. 3

## ФИГ. 4

### Клиническая классификация Американского фонда тяжелой миастении (Myasthenia Gravis Foundation of America) (MGFA)

Класс I: Наблюдается какая-либо/любая слабость глазных мышц; может наблюдаться слабость при закрывании глаз. Вся остальная мышечная сила в норме.

Класс II: Наблюдается легкая слабость мышц, отличных от глазных мышц; также может наблюдаться слабость глазных мышц любой степени тяжести.

А. Iа. Преимущественно наблюдается поражение конечностей, аксиальных мышц или и тех, и других мышц. Также может наблюдаться в меньшей степени поражение ротоглоточных мышц.

Б. IIб. Преимущественно наблюдается поражение ротоглоточных мышц, дыхательных мышц или и тех и других мышц. Также может наблюдаться в меньшей степени или равной степени поражение конечностей, аксиальных мышц или и тех, и других.

Класс III: Умеренная слабость, затрагивающая мышцы, иные чем глазные мышцы; также может наблюдаться слабость глазных мышц любой степени тяжести.

А. IIIа. Преимущественно наблюдается поражение конечностей, аксиальных мышц или и тех, и других мышц. Также может наблюдаться в меньшей степени поражение ротоглоточных мышц.

Б. IIIб. Преимущественно наблюдается поражение ротоглоточных мышц, дыхательных мышц или и тех и других мышц. Также может наблюдаться в меньшей степени или в равной степени поражение конечностей, аксиальных мышц или и тех, и других.

Класс IV: Сильная слабость, затрагивающая мышцы, иные, чем глазные мышцы; также может наблюдаться слабость глазных мышц любой степени тяжести.

А. IVа. Преимущественно наблюдается поражение конечностей, аксиальных мышц или и тех, и других мышц. Также может наблюдаться в меньшей степени поражение ротоглоточных мышц.

Б. IVб. Преимущественно наблюдается поражение ротоглоточных мышц, дыхательных мышц или и тех и других мышц. Также может наблюдаться в меньшей степени или равное поражение конечностей, аксиальных мышц или и тех, и других.

Класс V: Определяется как интубация, с механической вентиляцией или без нее, за исключением случаев, когда она применяется в ходе рутинного послеоперационного ведения.

Использование зонда для кормления без интубации переводит пациента в класс IVб.

Источник: [myasthenia.org](http://myasthenia.org).

ФИГ. 5

Степень	0	1	2	3	Оценка
Речь	Норма	Периодическая невнятность или назолалия	Постоянная невнятность или назолалия, пациента можно понять	Трудно понять речь	
Жевание	Норма	Утомление при приеме твердой пищи	Утомление при приеме мягкой пищи	Назогастральный зонд	
Глотание	Норма	Редкое поперхивание	Частое поперхивание, требующее изменения диеты	Назогастральный зонд	
Дыхание	Норма	Одышка, напряжение	Одышка в покое	ИВЛ	
Нарушение способности чистить зубы или причесываться	Отсутствует	С усилием, но нет необходимости в отдыхе	Требуется отдых	Функция нее может выполняться	
Нарушение способности вставать со стула	Отсутствует	Легкое, иногда с помощью рук	Умеренное, всегда с помощью рук	Выраженное, требуется помощь	
Диплопия	Отсутствует	Возникает, но не ежедневно	Ежедневная, но не постоянно	Постоянная	
Птоз	Отсутствует	Возникает, но не ежедневно	Ежедневный, но не постоянно	Постоянный	
Общая оценка:					

## ФИГ. 6

**Форма оценки QMG (количественной оценки тяжести клинических проявлений миастении)**

ФИО пациента \_\_\_\_\_ № пациента: \_\_\_\_\_ Дата: \_\_\_\_\_

№ медкарты: \_\_\_\_\_ Дата рождения: \_\_\_\_\_ Пол: \_\_\_\_\_

Рост(дюймы): \_\_\_\_\_ Вес(кг): \_\_\_\_\_

Эксперт, проводящий замаскированное исследование: \_\_\_\_\_

Доминирующая рука: \_\_\_\_\_

Доминирующая нога: \_\_\_\_\_

Дата и время обследования : \_\_\_\_\_

Антихолинэстеразные препараты: \_\_\_\_\_

Комментарии: \_\_\_\_\_

Слабость тестируемого параметра	Отсутствует	Легкая	Средняя	Тяжелая	Оценка
Степень	0	1	2	3	
Диплопия (взгляд в сторону) сек	60	11-59	1-10	Спонтанная	
Птоз (при взгляде вверх) сек	60	11-59	1-10	Спонтанный	
Лицевая мускулатура	Нормальное смыкание век	Полное, слабое, некоторое сопротивление	Полное, нет сопротивления	Неполное	
Глотание 0,4 унций воды (~100 мл) (1/2 чашки)	Норма	Минимальное поперхивание или покашливание	Сильное поперхивание, удушье или носовая регургитация	Невозможность глотания (тест не проводили)	
Речь после счета вслух от 1 до 50 (возникновение дизартрии)	Нет после Числа 50	Дизартрия на числе 30-49	Дизартрия на числе 10-29	Дизартрия на числе 9	
Вытягивание правой руки (90 °, сидя) сек	240	90-239	10-89	0-9	
Вытягивание левой руки (90 °, сидя) сек	240	90-239	10-89	0-9	

Жизненная емкость легких	≥80%	65-79%	50-64%	<50%	
Сжимание правого кулака мужчины: женщины: (кг)	≥45 ≥30	15-44 10-29	5-14 5-9	0-4 0-4	
Сжимание левого кулака мужчины: женщины: (кг)	≥35 ≥25	15-34 10-24	5-14 5-9	0-4 0-4	
Подъем головы (на 45 % лежа на спине) сек	120	30-119	1-29	0	
Вытягивание правой ноги (45-50% лежа) сек	100	31 -99	1-30	0	
Вытягивание левой ноги (45-50% лежа) сек	100	31-99	1-30	0	

Суммарная оценка МГ \_\_\_\_\_

## ФИГ. 7

Птоз при взгляде вверх (физическое обследование)	>45 секунд = 0	11-45 секунд = 1	1-10 секунд = 2	Мгновенно = 3
Диплопия при взгляде в сторону, вправо или влево (физическое обследование)	>45 секунд = 0	11-45 секунд = 1	1-10 секунд = 2	Мгновенно = 3
Смыкание век (физическое обследование)	Норма = 0	Легкая слабость (могут быть открыты с усилием) = 0	Умеренная слабость (могут быть открыты легко) = 1	Тяжелая слабость (неспособность держать глаза закрытыми) = 2
Речь (анамнез пациента)	Норма = 0	Периодическая невнятность или назолалия = 2	Постоянная невнятность или назолалия, пациента можно понять = 4	Трудно понять = 6
Жевание (анамнез пациента)	Норма = 0	Утомление при приеме твердой пищи = 2	Утомление при приеме мягкой пищи = 4	Назогастральный зонд = 6
Глотание (анамнез пациента)	Норма = 0	Редкое поперхивание или затруднения при глотании = 2	Частое поперхивание и затруднения при глотании, требующее изменения диеты = 5	Назогастральный зонд = 6
Дыхание (затруднения, вызванные МГ)	Норма = 0	Одышка, напряжение = 2	Одышка в покое = 4 <sup>а</sup>	ИВЛ - 9
Сгибание или разгибание шеи (самое слабое) (физическое обследование)	Норма = 0	Легкая слабость = 1	Умеренная слабость (т.е., -50% слабость, +15% = 3 <sup>а</sup> )	Тяжелая слабость -4



Отведение плеча (физическое обследование)	Норма = 0	Легкая слабость = 2	Умеренная слабость (т.е., -50% слабость, +15% = 4 <sup>a</sup> )	Тяжелая слабость = 5
Сгибание бедра (физическое обследование)	Норма = 0	Легкая слабость = 2	Умеренная слабость (т.е., -50% weak, ±15% = 4a)	Тяжелая слабость = 5
<sup>a</sup> Умеренную слабость для шеи и конечностей следует рассматриваться, как слабость, равную примерно 50% ± 15% от ожидаемой нормы силы. Любая слабость, выраженная в более легкой степени, будет считаться легкой, а в более тяжелой степени будет классифицироваться как тяжелая.				

## ФИГ. 8

<b>Пожалуйста, укажите, насколько правдиво каждое из утверждений (за последние 4 недели)</b>	Совсем нет 0	Немного 1	Сильно 2
1. МГ вызывает у меня раздражение и нервозность			
2. У меня проблемы с глазами из-за МГ (например, двоение в глазах)			
3. У меня проблемы с приемом пищи из-за МГ			
4. Я ограничил(а) свою социальную активность из-за МГ			
5. МГ ограничивает мою способность получать удовольствие от хобби и развлечений			
6. Мне трудно удовлетворять потребности моей семьи из-за МГ			
7. Приходится строить планы с учетом МГ			
8. Меня беспокоят ограничения в выполнении работы (включая работу на дому) из-за МГ			
9. Мне трудно говорить из-за МГ			
10. Я потерял некоторую личную независимость из-за МГ (например, вождение автомобиля, покупки, поездки по делам)			
11. Я очень подавлен(а) из-за МГ			
12. У меня проблемы с ходьбой из-за МГ			
13. Мне трудно передвигаться по общественным местам из-за МГ			
14. Я очень угнетен(а) и опустошен(а) из-за МГ			
15. Из-за МГ у меня возникли проблемы с уходом за собой и личной гигиеной.			

Суммарная оценка MGOOL-R

## ФИГ. 9

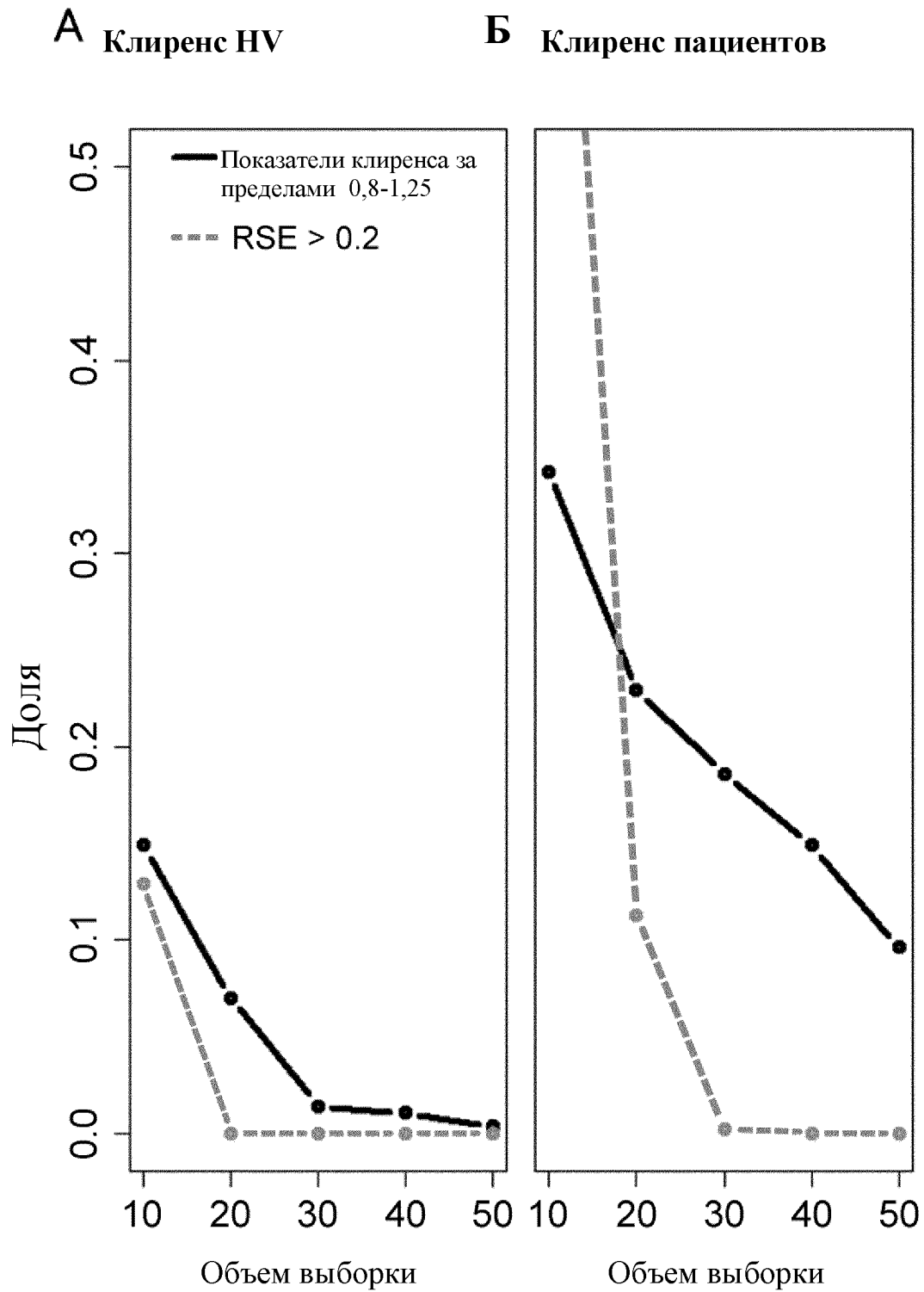
Neuro-QOL Item Bank v 1.0 -Fatigue - Short Form

### Краткая форма шкалы оценки утомления

Пожалуйста, ответьте на каждый вопрос или утверждение, отметив одну клетку в строке. За последние 7 дней...

		Никогда	Редко	Иногда	Часто	Всегда
NQFTG13	Я чувствую себя истощенным	1	2	3	4	5
NQFTG 11	Я чувствую, что у меня нет энергии	1	2	3	4	5
NQFTG 15	Я чувствую себя утомленным	1	2	3	4	5
NQFTG 06	Я слишком устал(а), чтобы заниматься домашними делами	1	2	3	4	5
NQFTG 07	Я слишком устал(а), чтобы выходить из дома	1	2	3	4	5
NQFTG 10	Меня расстраивало и раздражало то, что я слишком уставал(а), чтобы делать то, что я хотел(а) делать	1	2	3	4	5
NQFTG 14	Я чувствую себя уставшим	1	2	3	4	5
NQFTG 02	Мне пришлось ограничить свою социальную активность из-за усталости	1	2	3	4	5

ФИГ. 10



HV - здоровые взрослые

RSE - остаточная стандартная ошибка