

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **045933**

(13) **B1**

(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ**

(45) Дата публикации и выдачи патента
2024.01.19

(21) Номер заявки
202293087

(22) Дата подачи заявки
2021.06.07

(51) Int. Cl. **C07K 16/28** (2006.01)
A61K 9/00 (2006.01)
A61K 9/08 (2006.01)
A61K 47/18 (2017.01)
A61K 47/26 (2006.01)

(54) **ВОДНАЯ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКАЯ КОМПОЗИЦИЯ ЛЕВИЛИМАБА И ЕЕ ПРИМЕНЕНИЕ**

(31) **2020118737**

(32) **2020.06.05**

(33) **RU**

(43) **2023.03.22**

(86) **PCT/RU2021/050158**

(87) **WO 2021/246921 2021.12.09**

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
**АКЦИОНЕРНОЕ ОБЩЕСТВО
"БИОКАД" (RU)**

(72) Изобретатель:
**Толстых Дмитрий Александрович,
Цукур Алина Александровна,
Ломкова Екатерина Александровна,
Яковлев Александр Олегович,
Луцкий Антон Александрович,
Линькова Юлия Николаевна,
Зинкина-Орихан Арина Валерьевна,
Морозов Дмитрий Валентинович (RU)**

(74) Представитель:
Мельчаева О.А. (RU)

(56) EP-A1-3563867

Lomakin Nv: "A Clinical Trial of the Efficacy and Safety of Levilimab (BCD-089) in Patients With Severe COVID-19", Clinical Trials, 21 May 2020 (2020-05-21), pages 1-8, XP55848295, Retrieved from the Internet:URL:https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NC T04397562 [retrieved on 2021-10-06] the whole document

Yulia Linkova: "Study Details Tabular View No Results Posted Disclaimer How to Read a Study Record Study of the Efficacy and Safety of BCD-089 in Combination With Methotrexate in Patients With Active Rheumatoid Arthritis (SOLAR)", 19 November 2019 (2019-11-19), pages 1-11, XP55848409, Retrieved from the Internet: URL:https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NC T04227366 [retrieved on 2021-10-06] the whole document

EP-A1-3502135

(57) Изобретение относится к области фармации и медицины, а именно к водным композициям анти-IL-6R антитела левилимаба, которые могут быть использованы в качестве лекарственного средства для лечения IL-6R-ассоциированных заболеваний.

B1

045933

045933 B1

Область техники, к которой относится изобретение

Настоящее изобретение относится к области фармации и медицины, а именно к водным композициям анти-IL-6R антитела левилимаба, которые могут быть использованы в качестве лекарственного средства для лечения IL-6R-ассоциированных заболеваний.

Уровень техники

Интерлейкин-6 (IL-6, IL6) является одним из основных провоспалительных цитокинов. IL-6 продуцируется активированными моноцитами, макрофагами, Т-клетками, а также рядом других клеток. Наряду с другими цитокинами он участвует в процессах иммунного ответа, воспаления, ангиогенеза, костного метаболизма. Основное действие IL-6 связано с его участием в качестве кофактора в дифференцировке В-лимфоцитов, их созревании и трансформации в плазматические клетки, секретирующие иммуноглобулины. Помимо этого, IL-6 индуцирует экспрессию рецептора IL-6 на активированных клетках иммунной системы, а также индуцирует продукцию IL-2 Т-лимфоцитами. IL-6 стимулирует пролиферацию Т-лимфоцитов и реакции гемопоэза. По многообразию клеток продуцентов и мишеней биологического действия IL-6 является одним из наиболее активных цитокинов, участвующих в реализации иммунного ответа и воспалительной реакции. Установлено, что дисбаланс между про- и противовоспалительными действиями IL-6 приводит к различным аутоиммунным заболеваниям, хроническому воспалению и остеопорозу, псориазу, а избыточная продукция ассоциирована с различными формами рака.

Таким образом, подавление действия IL-6 является привлекательной терапевтической мишенью (Peter C. Heinrich Biochem. J. (2003) 374:1).

Рецептор IL-6 (IL-6R, IL6R), активируясь запускает каскад реакций в клетке, приводящих к активному синтезу белков, участвующих в реакциях воспалительного ответа. Рецептор активируется при связывании IL-6 с альфа-субъединицей рецептора IL-6 (CD126), и двух молекул gp130, передающих сигнал внутрь клетки (Simon A. Jones The FASEB Journal 15(1): 43-58). Существуют 2 формы альфа-рецептора: мембранная (mIL-6R) и растворимая (sIL-6R). Растворимая форма образуется в результате протеолиза трансмембранной части mIL-6R или в процессе альтернативного сплайсинга мРНК mIL-6R. Растворимая форма sIL-6R обеспечивает реакцию на IL-6 клеток, не имеющих mIL-6R на поверхности.

Таким образом, проведение сигнала IL-6 внутрь клетки возможно 2 путями. Первый (классический сигналинг), при котором IL-6 связывается с клетками иммунной системы, экспрессирующими на своей поверхности mIL-6R ассоциированную с молекулой gp130. Второй (транс-сигналинг)-IL-6 связывается с циркулирующей sIL-6R, формируя комплекс, который связывается с клетками, имеющим на мембране только молекулы gp130, т.е. потенциально любыми клетками человеческого организма. В этом случае, на мембране клетки происходит сборка полного комплекса рецептора IL-6 и последующий запуск сигнального каскада в клетке.

Блокирование действия IL-6 и, следовательно, воспалительной реакции можно добиться, помешав сборке полного комплекса рецептора IL-6, состоящего из альфа-субъединицы, молекул gp130 и IL-6. Полипептиды, связываясь с IL-6R, способны препятствовать сборке полного комплекса, соответственно, блокируют проведение сигнала внутрь клетки.

Полипептиды, специфически связывающиеся с IL-6 (патент RU2550262), IL-6R или gp130 показали значительное ингибирующее влияние на функционирование IL-6. В настоящее время известно антитело, связывающееся с IL-6R, тоцилизумаб, которое представляет собой рекомбинантное гуманизованное моноклональное антитело подкласса иммуноглобулина IgG1_κ (гамма-1, каппа), сконструированное путем переноса региона, определяющего комплементарность (CDR) мышинового анти-IL-6R антитела в человеческий IgG1.

Препараты на основе антитела (тоцилизумаб) связывающегося с IL-6R и блокирующего взаимодействие с IL-6 применяются при лечении ревматоидного артрита и системного ювенильного идиопатического артрита, как в виде монотерапии, так и в комбинации с метотрексатом и/или с другими базисными противовоспалительными препаратами.

Также известно новое антитело к IL-6R - левилимаб (также известный как BCD-089), который представляет собой моноклональное антитело человека изотипа IgG1 с внесенными в константную часть мутациями. Левилимаб в настоящее время проходит клинические исследования у пациентов с различными заболеваниями, включая ревматоидный артрит и (острый) респираторный дистресс-синдром у взрослых.

Известно, что применение моноклональных антител против рецептора интерлейкина-6 (ИЛ6Р, IL-6R) позволяет эффективно купировать синдром цитокинового шторма, который развивается при использовании CAR-T терапии в онкологии. Эффективность терапии (купирование синдрома в течение 14 дней от первого и единственного введения) достигает 69%.

В контексте пандемии COVID-19, показано успешное применение анти-IL-6R терапии у пациентов с тяжелым или критическим течением COVID-19 пневмонии. Проведенный мета-анализ опубликованных данных эффективности ингибиторов IL-6R у пациентов с COVID-19 позволил предварительно подтвердить их эффективность (Xu, X.; Han, M.; et al., Effective treatment of severe COVID-19 patients with tocilizumab. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 2020; Coomes, E. A.; Haghbayan, H., Interleukin-6 in COVID-19: A Systematic Review and Meta-Analysis. medRxiv 2020, 2020.03.30.20048058).

В клиническом течении пневмонии COVID-19 существует период окна между постановкой диагно-

за и развитием синдрома полиорганной недостаточности, составляющий около 5-7 дней, по истечению которого у большинства пациентов наблюдается улучшение, однако у около 20% пациентов наблюдается нарастание тяжести пневмонии (СВЦ, ОРДС). Для улучшения прогноза и снижения летальности, рекомендуется применение упреждающей противовоспалительной терапии начиная с момента постановки диагноза COVID-19 пневмонии (Sun, X.; Wang, T.; etc., Cytokine storm intervention in the early stages of COVID-19 pneumonia. Cytokine Growth Factor Rev 2020).

Ингибиторы IL-6R включены в российские рекомендации по лечению COVID-19 в качестве препаратов упреждающей противовоспалительной терапии COVID-19 у взрослых (для пациентов со среднетяжелым и тяжелым течением: с острым респираторным дистресс-синдромом, синдромом цитокинового шторма).

Таким образом, в настоящее время является актуальной разработка новых улучшенных стабильных водных фармацевтических композиций для антитела к IL-6R левелимаба.

Краткое описание чертежей

Фиг. 1 представляет собой график зависимости оптической плотности растворов при 400 нм от концентрации ПЭГ для моноклонального антитела против рецептора IL-6 левелимаба в исследуемых составах.

Фиг. 2 представляет собой график, иллюстрирующий температурный тренд фармацевтической композиции 5 Acet.Buf + 300Glu (выбор осмотического агента).

Фиг. 3 представляет собой график, иллюстрирующий температурный тренд фармацевтической композиции 5 Acet Buf. +Mann (выбор осмотического агента).

Фиг. 4 представляет собой график, иллюстрирующий температурный тренд фармацевтической композиции 5 Acet. Buf + 100Arg + Mann (выбор осмотического агента).

Фиг. 5 представляет собой график, иллюстрирующий температурный тренд фармацевтической композиции 5 Acet Buf. + 200Arg (выбор осмотического агента).

Фиг. 6 представляет собой график, иллюстрирующий изменение показателей качества в зависимости от времени при ускоренном хранении в концентрации 220 мг/мл левелимаба.

Фиг. 7 представляет собой график, иллюстрирующий изменение показателей качества в зависимости от времени при ускоренном хранении в концентрации 180 мг/мл левелимаба.

Фиг. 8 представляет собой график, иллюстрирующий изменение показателей качества в зависимости от времени при ускоренном хранении в концентрации 20 мг/мл левелимаба.

Фиг. 9 представляет собой график, иллюстрирующий долю пациентов, достигших улучшения в течение болезни, соответствующее ACR20 к 4, 8, 12, 16, 24, 36, 48 и 52 неделе.

Фиг. 10 представляет собой график, иллюстрирующий долю пациентов, достигших улучшения в течение болезни, соответствующее ACR50 к 4, 8, 12, 16, 24, 36, 48 и 52 неделе.

Фиг. 11 представляет собой график, иллюстрирующий долю пациентов, достигших улучшения в течение болезни, соответствующее ACR70 к 4, 8, 12, 16, 24, 36, 48 и 52 неделе.

Фиг. 12 представляет собой график, иллюстрирующий изменение индекса DAS-2 8-CRP относительно исходного уровня на протяжении 52 недель терапии.

Фиг. 13 представляет собой график, иллюстрирующий долю больных, достигших ремиссии болезни к 24, 36, 48 и 52 неделям терапии.

Фиг. 14 представляет собой график, иллюстрирующий изменения СОЭ на фоне терапии.

Фиг. 15 представляет собой график, иллюстрирующий динамику концентрации растворимого рецептора интерлейкина-6 у пациентов на протяжении 12 недель терапии.

Фиг. 16 представляет собой график, иллюстрирующий изменение концентрации С-реактивного белка в сыворотке крови пациентов на протяжении 12 недель терапии.

Описание изобретения

Определения.

Если иное не определено в настоящем документе, научные и технические термины, используемые в связи с настоящим изобретением, будут иметь значения, которые обычно понятны специалистам в данной области.

Кроме того, если по контексту не требуется иное, термины в единственном числе включают в себя термины во множественном числе, и термины во множественном числе включают в себя термины в единственном числе. Как правило, используемая классификация и методы культивирования клеток, молекулярной биологии, иммунологии, микробиологии, генетики, аналитической химии, химии органического синтеза, медицинской и фармацевтической химии, а также гибридизации и химии белка и нуклеиновых кислот, описанные в настоящем документе, хорошо известны специалистам и широко применяются в данной области. Ферментативные реакции и способы очистки осуществляются в соответствии с инструкциями производителя, как это обычно осуществляется в данной области, или как описано в настоящем документе.

Термин "антитело" или "иммуноглобулин" (Ig), как использовано в данном описании, включает полноразмерные антитела и любой антигенсвязывающий фрагмент (т.е. "антигенсвязывающую часть") или его отдельные цепи.

Термин "антигенсвязывающая часть" антитела или "антигенсвязывающий фрагмент" (или просто "часть антитела" или "фрагмент антитела"), как использовано в данном описании, относится к одному или нескольким фрагментам антитела, которые сохраняют способность специфически связываться с антигеном. Было показано, что антигенсвязывающая функция антитела может выполняться фрагментами полноразмерного антитела. Примеры связывающих фрагментов, включенных в термин "антигенсвязывающая часть" антитела включают (i) Fab-фрагмент, одновалентный фрагмент, состоящий из доменов VL, VH, CL и CH1; (ii) F(ab')₂-фрагмент, двухвалентный фрагмент, содержащий два Fab-фрагмента, связанных дисульфидным мостиком в шарнирной области; (iii) Fd-фрагмент, состоящий из доменов VH и CH1; (iv) Fv-фрагмент, состоящий из доменов VL и VH в едином плече антитела, (v) dAb-фрагмент (Ward et al. (1989) Nature 341:544-546), который состоит из домена VH/VHH; и (vi) выделенная определяющая комплементарность область (CDR). Кроме того, две области Fv-фрагмента, VL и VH, кодируются разными генами, они могут быть соединены при помощи рекомбинантных способов с использованием синтетического линкера, который дает возможность получать их в виде единой белковой цепи, в которой области VL и VH спариваются с образованием одновалентных молекул (известных как одноцепочечный Fv (scFv); см., например, Bird et al. (1988) Science 242:423-426; и Huston et al. (1988) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85:5879-5883). Предполагается, что такие одноцепочечные молекулы также включены в термин "антигенсвязывающая часть" антитела. Такие фрагменты антител получают с использованием общепринятых способов, известных специалистам в данной области, и эти фрагменты подвергают скринингу таким же образом, как и интактные антитела.

Предпочтительно CDR антигенсвязывающего участка или весь антигенсвязывающий участок антител по изобретению имеет происхождение из мыши, ламы или донорской человеческой библиотеки или по существу человеческое происхождение с определенными аминокислотными остатками, измененными, например, замещенными разными аминокислотными остатками с тем, чтобы оптимизировать конкретные свойства антитела, например K_D , k_{off} , IC_{50} , EC_{50} , ED_{50} . Предпочтительно каркасные участки антитела по изобретению имеют человеческое происхождение или по существу человеческое происхождение (по крайней мере на 80, 85, 90, 95, 96, 97, 98 или 99% человеческое происхождение).

Термин "моноклональное антитело" или "mAb" относится к антителу, которое синтезировано и выделено отдельной клональной популяцией клеток. Клональная популяция может быть клональной популяцией иммортализованных клеток. В некоторых вариантах осуществления изобретения иммортализованные клетки в клональной популяции являются гибридными клетками, гибридами, которые обычно получают путем слияния отдельных В-лимфоцитов от иммунизированных животных с отдельными клетками лимфоцитарной опухоли. Гибридомы представляют собой тип сконструированных клеток и не встречаются в природе.

Популяция "моноклональных антител", как используется в настоящем документе, относится к гомогенной или по существу гомогенной популяции антител (т.е. по крайней мере приблизительно 96%, но более предпочтительно по крайней мере приблизительно 97 или 98% или еще более предпочтительно по крайней мере 99% антител в популяции будут конкурировать в иммуно-ферментном анализе ELISA за тот же антиген или эпитоп, или более предпочтительно антитела являются идентичными в аминокислотной последовательности).

Полноразмерное антитело, существующее в природе, представляет собой молекулу иммуноглобулина, которая состоит из четырех полипептидных цепей (две тяжелые (H) цепи (приблизительно 50-70 кДа при полной длине) и две легкие (L) цепи (приблизительно 25 кДа при полной длине)), связанных дисульфидными мостиками. Аминоконцевая часть каждой цепи включает переменный домен из приблизительно 100-110 или более аминокислот, которые отвечают за связывание антигена. Карбокси-концевая часть каждой цепи определяет константный участок, главным образом, отвечающий за функцию эффектора. Легкие цепи классифицируют как каппа или лямбда, и они характеризуются специфичным константным участком. Каждая легкая цепь состоит из переменного участка N-концевой легкой цепи (в данной заявке "VL" или "VK") и константного участка легкой цепи, состоящего из одного домена (CL или CK). Тяжелые цепи классифицируют как γ (гамма), δ (дельта), альфа (α), мю (μ) или эпсилон (ϵ), и они определяют изотип антитела, такой как IgG, IgM, IgA, IgD и IgE, соответственно, и несколько из них могут быть дополнительно разделены на подклассы (изотипы), такие как IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 и IgA2. Каждый тип тяжелой цепи характеризуется конкретным константным участком Fc. Каждая тяжелая цепь состоит из переменного участка N-концевой тяжелой цепи (в данной заявке "VH") и константного участка CH (тяжелой цепи). Константный участок тяжелой цепи состоит из трех доменов (CH1, CH2 и CH3) для IgG, IgD и IgA и 4 доменов (CH1, CH2, CH3 и CH4) для IgM и IgE. Переменные домены VH и VL могут быть дополнительно разделены на участки гипервариабельности (гипервариабельные участки, CDR), чередующиеся с более консервативными каркасными участками (FR). Каждый вариабельный домен состоит из трех CDR и четырех FR, расположенных в следующем порядке от N-конца к C-концу: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3 и FR4.

Вариабельные участки каждой из пар легкая/тяжелая цепь образуют антиген-связывающие сайты антитела. Таким образом, интактное IgG антитело имеет два сайта связывания. За исключением бифункциональных или биспецифических антител два сайта связывания являются одинаковыми. Как использу-

ется в данной заявке, "антигенсвязывающая часть", или "антигенсвязывающий участок", или "антигенсвязывающий домен" относятся, взаимозаменяемо, к такой части молекулы антитела, которая содержит аминокислотные остатки, взаимодействующие с антигеном и обуславливающие специфичность и аффинность антитела по отношению к антигену. Такая часть антитела включает "каркасные" аминокислотные остатки, необходимые для поддержания надлежащей конформации антиген-связывающих остатков.

"Фрагмент антитела" может представлять собой фрагмент антитела или фрагмент антитела, имеющий активность полноразмерного антитела. Указанный фрагмент антитела может представлять собой F(ab')₂, F(ab)₂, Fab', Fab Fv и scFv.

Термин "ингибировать" или "нейтрализовать", как используется в данной заявке, по отношению к функциональной активности антитела по изобретению, означает способность в значительной степени препятствовать, предотвращать, ограничивать, замедлять, прекращать, уменьшать или обращать, например, развитие или тяжесть того, что ингибируют, включая, но не ограничиваясь вышеприведенными, биологическую активность (например, активность IL-6R) или свойство, заболевание или состояние. Ингибирование или нейтрализация активности IL-6R в результате связывания антитела по изобретению с IL-6R составляет предпочтительно по крайней мере приблизительно 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 95% или выше.

Термин "выделенный" или "изолированный" при использовании по отношению к нуклеиновой кислоте или белковому препарату (например, антителу) относится к молекуле нуклеиновой кислоты или белковой молекуле, которые идентифицируют и отделяют по крайней мере от одного контаминантного вещества, с которым она обычно связана в природном источнике. Предпочтительно "выделенное антитело" является антителом, которое по существу не содержит другие антитела, обладающие отличительной антигенной специфичностью (например, фармацевтические композиции, согласно настоящему изобретению, содержат выделенное антитело, которое специфически связывает IL-6R и по существу не содержит антитела, которые специфически связывают антигены, отличные от IL-6R).

Термин "специфическое связывание", как используется в данной заявке, относится к той ситуации, при которой один участник пары специфического связывания не связывает в значительной степени молекулы, отличные от его партнера (партнеров) по специфическому связыванию. Термин также применим, когда, например, антигенсвязывающий домен антитела по изобретению является специфическим по отношению к конкретному эпитопу, который переносится рядом антигенов, в таком случае специфическое антитело, имеющее антигенсвязывающий домен, будет способно к специфическому связыванию различных антигенов, несущих эпитоп.

"Kabat номенклатура" или "номенклатура по Kabat" применяются в данной заявке к системе нумерации аминокислотных остатков, которые являются более вариабельными (т.е. гипервариабельными), чем остальные аминокислотные остатки в вариабельных участках тяжелой и легкой цепи антитела (Kabat et al., Ann. N.Y. Acad. Sci., 190:382-93 (1971); Kabat et al. Sequences of Proteins of Immunological Interest, Fifth Edition, U.S. Department of Health and Human Services, NIH Publication No. 91-3242 (1991)).

Термин "фармацевтическая композиция" относится к композиции и/или составу, содержащему антитело согласно изобретению в терапевтически эффективном количестве и эксципиенты или вспомогательные вещества (носители, разбавители, наполнители, растворители и другие эксципиенты).

Термин "буфер" или "буферный раствор" относится к водному раствору, содержащему смесь кислоты (обычно слабой кислоты, такой как, например, уксусная кислота, лимонная кислота) и ее конъюгированного основания (такой как, например, ацетатной или цитратной соли, например, ацетат натрия, цитрат натрия, а также гидраты указанных солей, например, натрия ацетат тригидрат) или альтернативно смесь основания (обычно слабого основания, например, гистидина) и его конъюгированной кислоты (например, гистидина гидрохлорида). Значение pH "буферного раствора" мало изменяется при добавлении к нему небольшого количества сильного основания или сильной кислоты, а также при разбавлении и концентрировании, благодаря "буферному эффекту", обеспечиваемому "буферным агентом".

В настоящей заявке, "буферная система" содержит один или несколько буферных агентов и/или их конъюгата(ов) с кислотой или основанием, и более подходяще содержит один или несколько буферных агентов и их конъюгата(ов) с кислотой или основанием, и наиболее подходяще содержит только один буферный агент и его кислотный/щелочной конъюгат. Если не указано иное, любые концентрации, указанные в настоящем изобретении по отношению к "буферной системе" (концентрация буфера) могут относиться к объединенной концентрации буферного(ых) агента(ов) и/или его конъюгата(ов) с кислотой или основанием. Другими словами, концентрации, указанные в настоящей заявке по отношению к "буферной системе", могут относиться к объединенной концентрации релевантных буферных видов (то есть, видов в динамическом равновесии друг с другом, например, цитрат/лимонная кислота). Суммарное значение pH композиции, содержащей релевантную буферную систему, является отображением равновесной концентрации каждого из релевантных буферных видов (то есть, баланса буферного (ых) агента (ов) с его конъюгатом (ами) с кислотой или основанием).

Термин "буферный агент" относится к кислотному или щелочному компоненту (обычно слабой кислоте или слабому основанию) буфера или буферного раствора. Буферный агент помогает поддерживать значение pH данного раствора при или около заранее определенного значения, и буферные агенты обыч-

но выбирают для дополнения заранее определенного значения. Буферный агент может представлять собой единственное соединение, которое приводит к желательному буферному эффекту, в особенности, если указанный буферный агент смешан с (и подходяще способен к протонному обмену с) подходящим количеством (в зависимости от заранее определенного желательного значения) его соответствующего "кислотного/щелочного конъюгата".

Термин "солубилизатор" при использовании в данном тексте означает фармацевтически приемлемое неионногенное поверхностно-активное вещество. Можно использовать один солубилизатор, а также комбинации солубилизаторов. Примерами солубилизаторов являются, но не ограничиваются ими, полисорбат 20 или полисорбат 80, полоксамер 184 или полоксамер 188, или PLURONIC®.

Термины "осмотический агент" или "агент, регулирующий тоничность", а также осмолитик в том виде, как они здесь использованы, относятся к эксципиенту, который может обеспечивать требуемое осмотическое давление жидкого раствора антителя. В некоторых воплощениях агент, регулирующий тоничность, может подводить осмотическое давление жидкого препарата антителя до изотоничного так, что данный препарат антителя является физиологически совместимым с клетками ткани организма субъекта. В еще одном воплощении "агент, регулирующий тоничность", может способствовать увеличению стабильности антителя. "Изотоничный" препарат представляет собой препарат, который имеет осмотическое давление, эквивалентное человеческой крови. Изотоничные препараты обычно имеют осмотическое давление от примерно 239 до 376 мОсм/кг. Термин "гипотонический" описывает препарат с осмотическим давлением, меньшим, чем осмотическое давление человеческой крови. Соответственно, термин "гипертонический" используется для описания препарата с осмотическим давлением, превышающим осмотическое давление человеческой крови. Изотоничность можно измерять с использованием, например, парового или криоскопического осмометра. Агент, регулирующий тоничность, может находиться в энантиомерной (например, L- или D-энантиомер) или рацемической форме; в форме изомеров, таких как альфа или бета, включая альфа, альфа; или бета, бета; или альфа, бета; или бета, альфа; в форме свободной кислоты или свободного основания; в форме соли; в гидратированной форме (например, моногидрат) или в безводной форме. Примерами осмотических агентов являются, но не ограничиваются ими, сахара (трегалозы дигидрат, сахароза, глюкоза), полиолы (маннитол, сорбитол), аминокислоты (пролин, аргинин, глицин), или соли (натрия хлорид, калия хлорид, магния хлорид).

Термин "длительное хранение" или "долговременная стабильность" следует понимать, как обозначение того, что фармацевтическая композиция может храниться в течение трех месяцев или более, в течение шести месяцев или более и предпочтительно в течение одного года или более, наиболее предпочтительно, с минимальным сроком хранения в стабильном состоянии по меньшей мере два года. В общем, термины "длительное хранение" и "долговременная стабильность" дополнительно включают продолжительности хранения в стабильном состоянии, которые по меньшей мере сравнимы или лучше, чем срок хранения в стабильном состоянии, как правило, необходимый для доступных в настоящее время коммерческих составов антителя к IL-6R левилимаба без потерь в стабильности, которые могут сделать состав непригодным для определенного для него фармацевтического применения.

Термин "парентеральное введение" означает режимы введения, обычно выполняемые с помощью инъекции (инфузии), и включает, в частности, внутривенную, внутримышечную, внутриартериальную, интратрахеальную, внутрикапсулярную, внутриорбитальную, внутрикардиальную, внутрикожную, внутрибрюшинную, транстрахеальную, подкожную, внутрисуставную, субкапсулярную, субарахноидальную, внутриспинальную, эпидуральную и надчревную инъекцию или инфузию.

Термин "лекарственное средство" или "препарат" подразумевает вещество (или смесь веществ в виде фармацевтической композиции) в виде таблеток, капсул, растворов, мазей и др. готовых форм, предназначенное для восстановления, исправления или изменения физиологических функций у человека и животных, а также для лечения и профилактики болезней, диагностики, анестезии, контрацепции, косметологии и прочего.

Термин "заболевание или нарушение, ассоциированное с IL-6R" или "заболевание или нарушение, опосредованное IL-6R" подразумевает все заболевания или нарушения, которые либо прямо, либо косвенно связаны с активацией сигнального пути IL6, включая этиологию, патогенез, прогрессирование, персистенцию, или патологию заболевания или нарушения.

Термин "применение" относится к возможности применения антителя согласно изобретению или фармацевтической композиции, его содержащей, для лечения, облегчения течения заболеваний, для ускорения ремиссии, снижения частоты рецидивов заболеваний или нарушений, опосредуемых рецепторами, с которыми может связываться антители согласно изобретению. Примерами заболеваний являются, но не ограничиваются ими, ревматоидный артрит, ювенильный хронический артрит, склеродермия, реакция "трансплантат против хозяина", отторжение трансплантата органа, острое или хроническое иммунное заболевание, связанное с трансплантацией органа, кахексия, взрослый (острый) респираторный дистресс-синдром, болезнь Стилла, системная склеродермия, синдром Шегрена, болезнь/артериит Такаясу, нарушения, связанные с цитокиновой терапией, синдром выброса цитокинов (синдром высвобождения цитокинов), иридоциклит, увеит, оптический неврит, оптический нейромиелинит, ювенильный ревматоидный артрит, гигантоклеточный артериит, полиартикулярный ювенильный идиопатический артрит,

системный ювенильный идиопатический артрит; рак, в частности, множественная миелома и злокачественные солидные опухоли, колоректальный рак, рак предстательной железы, рак яичника.

Термин "способ лечения" относится к возможности применения антитела согласно изобретению или фармацевтической композиции, его содержащей, для лечения, облегчения течения заболеваний, для ускорения ремиссии, снижения частоты рецидивов вследствие заболеваний или нарушений, связанных с активностью IL-6R. "Лечить" или "лечение", "профилактика" заболевания, нарушения или состояния может включать предотвращение или замедление появления клинических симптомов заболевания, нарушения или состояния, развивающегося у человека, ингибирования заболевания, нарушения или состояния, то есть остановки, уменьшения или замедления развития заболевания или его рецидива (в случае поддерживающей терапии) или по меньшей мере его одного клинического или субклинического симптома, или облегчение или ослабление заболевания, то есть вызывание регресса заболевания, нарушения или состояния. Примерами заболеваний являются, но не ограничиваются ими, ревматоидный артрит, ювенильный хронический артрит, склеродермия, реакция "трансплантат против хозяина", отторжение трансплантата органа, острое или хроническое иммунное заболевание, связанное с трансплантацией органа, кахексия, взрослый (острый) респираторный дистресс-синдром, болезнь Стилла, системная склеродермия, синдром Шегрена, болезнь/артериит Такаясу, нарушения, связанные с цитокиновой терапией, синдром выброса цитокинов (синдром высвобождения цитокинов), иридоциклит, увеит, оптический неврит, оптический нейромиелит, ювенильный ревматоидный артрит, гигантоклеточный артериит, полиартикулярный ювенильный идиопатический артрит, системный ювенильный идиопатический артрит; рак, в частности, множественная миелома и злокачественные солидные опухоли, колоректальный рак, рак предстательной железы, рак яичника.

Термин "водная композиция" при использовании в данном документе относится к композиции на основе воды, в качестве воды могут быть использованы: вода, вода для инъекций, физиологический раствор (0,9-1,0%-ный водный раствор хлористого натрия).

В одном варианте осуществления изобретения субъект лечения или пациент является млекопитающим, предпочтительно человеческим субъектом. Вышеупомянутый субъект может быть мужского или женского пола любого возраста.

В настоящем описании и в последующей формуле изобретения, если контекстом не предусмотрено иное, слова "иметь", "включать" и "содержать" или их вариации, такие как "имеет", "имеющий", "включает", "включающий", "содержит" или "содержащий", следует понимать, как включение указанного целого или группы целых, но не исключение любого другого целого или группы целых.

Сущность изобретения

В настоящем изобретении раскрыты стабильные водные фармацевтические композиции антитела к IL-6R левелимаба, которые могут быть использованы в качестве лекарственного средства для лечения IL-6R- ассоциированных заболеваний.

Антитело к IL-6R левелимаб, представляющее собой моноклональное антитело человека изотипа IgG1, включает тяжелую цепь (HC) с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 5, где переменный домен тяжелой цепи (SEQ ID NO: 4) содержит HCDR1 (SEQ ID NO: 1), HCDR2 (SEQ ID NO: 2) и HCDR3 (SEQ ID NO: 3); и легкую цепь (LC) с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 10, где переменный домен легкой цепи (SEQ ID NO: 9) содержит LCDR1 (SEQ ID NO: 6), LCDR2 (SEQ ID NO: 7) и LCDR3 (SEQ ID NO: 8) (международная заявка PCT/RU2017/050070).

Левелимаб - рекомбинантное человеческое моноклональное антитело к рецептору интерлейкина-6. Левелимаб связывается и блокирует как растворимые (sIL-6R), так и мембранные рецепторы IL-6 (mIL-6R). Блокада обеих форм рецептора позволяет предотвратить развитие IL-6-ассоциированного провоспалительного каскада, в том числе препятствует активации антигенпрезентирующих клеток, В- и Т-лимфоцитов, моноцитов и макрофагов, эндотелиальных клеток и фибробластов, и избыточной продукции других провоспалительных цитокинов. IL-6 участвует в активации и поддержании местных воспалительных реакций (образование паннуса в синовии, стимуляция остеокластогенеза - эрозии хрящевой ткани, остеопороз), кроме того IL-6 непосредственно индуцирует синтез острофазовых белков в гепатоцитах: СРБ, фибриногена, сывороточного амилоидного белка А - SAA, гипсидина, лептина.

В одном из аспектов настоящее изобретение относится к водной фармацевтической композиции левелимаба, содержащей:

- (a) 5-220 мг/мл левелимаба;
- (b) 0,4-1,8 мг/мл натрия ацетата тригидрата;
- (c) 20-50 мг/мл полиола и 5-10 мг/мл глицина или 10-32 мг/мл аргинина гидрохлорида; и
- (d) уксусную кислоту до pH 4,5-6,5.

В некоторых вариантах осуществления изобретения указанный полиол выбран из маннитола или сорбитола.

В одном из аспектов настоящее изобретение относится к водной фармацевтической композиции левелимаба, содержащей:

- (i) 5-220 мг/мл левелимаба;
- (ii) 0,4-1,8 мг/мл натрия ацетата тригидрата;

- (iii) 20-50 мг/мл полиола;
- (iv) 5-10 мг/мл глицина; и
- (v) уксусную кислоту до pH 4,5-6,5.

Концентрация левилимаба, содержащегося в фармацевтических композициях по настоящему изобретению, может варьироваться в зависимости от желаемых свойств композиций, а также от конкретных условий, способов и целей использования фармацевтических композиций.

В некоторых вариантах осуществления изобретения указанный левилимаб находится в концентрации 5-40 мг/мл.

В некоторых вариантах осуществления изобретения указанный левилимаб находится в концентрации 5 мг/мл.

В некоторых вариантах осуществления изобретения указанный левилимаб находится в концентрации 5-15 мг/мл.

В некоторых вариантах осуществления изобретения указанный левилимаб находится в концентрации 10 мг/мл.

В некоторых вариантах осуществления изобретения указанный левилимаб находится в концентрации 15-25 мг/мл.

В некоторых вариантах осуществления изобретения указанный левилимаб находится в концентрации 20 мг/мл.

В некоторых вариантах осуществления изобретения указанный левилимаб находится в концентрации 100-180 мг/мл.

В некоторых вариантах осуществления изобретения указанный левилимаб находится в концентрации 140-220 мг/мл.

В некоторых вариантах осуществления изобретения указанный левилимаб находится в концентрации 180-220 мг/мл.

В некоторых вариантах осуществления изобретения указанный левилимаб находится в концентрации 160-200 мг/мл.

В некоторых вариантах осуществления изобретения указанный левилимаб находится в концентрации 180 мг/мл.

В некоторых вариантах осуществления изобретения указанный левилимаб находится в концентрации 200 мг/мл.

В некоторых вариантах осуществления изобретения указанный натрия ацетата тригидрат находится в концентрации 0,4-1,0 мг/мл.

В некоторых вариантах осуществления изобретения указанный натрия ацетата тригидрат находится в концентрации 0,4-0,5 мг/мл.

В некоторых вариантах осуществления изобретения указанный натрия ацетата тригидрат находится в концентрации 0,436 мг/мл.

В некоторых вариантах осуществления изобретения указанный полиол находится в концентрации 20-26 мг/мл.

В некоторых вариантах осуществления изобретения указанный полиол находится в концентрации 22-24 мг/мл.

В некоторых вариантах осуществления изобретения указанный полиол находится в концентрации 23 мг/мл.

В некоторых вариантах осуществления изобретения указанный полиол может быть выбран из сахароспирта, такого как маннитол, сорбитол, глицерин или ксилит или их комбинаций.

В некоторых вариантах осуществления изобретения указанный маннитол находится в концентрации 20-26 мг/мл.

В некоторых вариантах осуществления изобретения указанный маннитол находится в концентрации 22-24 мг/мл.

В некоторых вариантах осуществления изобретения указанный маннитол находится в концентрации 23 мг/мл.

В некоторых вариантах осуществления изобретения указанный сорбитол находится в концентрации 20-26 мг/мл.

В некоторых вариантах осуществления изобретения указанный сорбитол находится в концентрации 22-24 мг/мл.

В некоторых вариантах осуществления изобретения указанный сорбитол находится в концентрации 23 мг/мл.

В некоторых вариантах осуществления изобретения указанная комбинация маннитола и сорбитола находится в концентрации 20-26 мг/мл.

В некоторых вариантах осуществления изобретения указанная комбинация маннитола и сорбитола находится в концентрации 22-24 мг/мл.

В некоторых вариантах осуществления изобретения указанная комбинация маннитола и сорбитола находится в концентрации 23 мг/мл.

В некоторых вариантах осуществления изобретения указанный глицин находится в концентрации 7-8 мг/мл.

В некоторых вариантах осуществления изобретения указанный глицин находится в концентрации 7,5 мг/мл.

Необходимое значение pH фармацевтической композиции по настоящему изобретению может достигаться путем добавления уксусной кислоты.

В некоторых вариантах осуществления изобретения указанная уксусная кислота добавлена до pH 4,5-5,5.

В некоторых вариантах осуществления изобретения указанная уксусная кислота добавлена до pH 4,5 5,0, 5,5, 6,0, или 6,5.

В некоторых вариантах осуществления изобретения предлагается водная фармацевтическая композиция, содержащая:

- (i) 20 мг/мл левилимаба;
- (ii) 0,436 мг/мл натрия ацетата тригидрата;
- (iii) 23 мг/мл полиола, выбранного из маннитола или сорбитола;
- (iv) 7,5 мг/мл глицина; и
- (v) уксусную кислоту до pH 5,0.

В некоторых вариантах осуществления изобретения предлагается водная фармацевтическая композиция, содержащая:

- (i) 5 мг/мл левилимаба;
- (ii) 0,436 мг/мл натрия ацетата тригидрата;
- (iii) 23 мг/мл полиола, выбранного из маннитола или сорбитола;
- (iv) 7,5 мг/мл глицина; и
- (v) уксусную кислоту до pH 5,0.

В некоторых вариантах осуществления изобретения предлагается водная фармацевтическая композиция, содержащая:

- (i) 10 мг/мл левилимаба;
- (ii) 0,436 мг/мл натрия ацетата тригидрата;
- (iii) 23 мг/мл полиола, выбранного из маннитола или сорбитола;
- (iv) 7,5 мг/мл глицина; и
- (v) уксусную кислоту до pH 5,0.

В некоторых вариантах осуществления изобретения предлагается водная фармацевтическая композиция, содержащая:

- (i) 100 мг/мл левилимаба;
- (ii) 0,436 мг/мл натрия ацетата тригидрата;
- (iii) 23 мг/мл полиола, выбранного из маннитола или сорбитола;
- (iv) 7,5 мг/мл глицина; и
- (v) уксусную кислоту до pH 5,0.

В некоторых вариантах осуществления изобретения предлагается водная фармацевтическая композиция, содержащая:

- (i) 180 мг/мл левилимаба;
- (ii) 0,436 мг/мл натрия ацетата тригидрата;
- (iii) 23 мг/мл маннитола или сорбитола;
- (iv) 7,5 мг/мл глицина; и
- (v) уксусную кислоту до pH 5,0.

В некоторых вариантах осуществления изобретения предлагается водная фармацевтическая композиция, содержащая:

- (i) 200 мг/мл левилимаба;
- (ii) 0,436 мг/мл натрия ацетата тригидрата;
- (iii) 23 мг/мл полиола, выбранного из маннитола или сорбитола;
- (iv) 7,5 мг/мл глицина; и
- (v) уксусную кислоту до pH 5,0.

В некоторых вариантах осуществления изобретения предлагается водная фармацевтическая композиция, содержащая:

- (i) 220 мг/мл левилимаба;
- (ii) 0,436 мг/мл натрия ацетата тригидрата;
- (iii) 23 мг/мл полиола, выбранного из маннитола или сорбитола;
- (iv) 7,5 мг/мл глицина; и
- уксусную кислоту до pH 5,0.

В одном из аспектов настоящее изобретение относится к водной фармацевтической композиции левилимаба, содержащей:

- (i) 5-220 мг/мл левилимаба;

- (ii) 1,744 мг/мл натрия ацетата тригидрата;
- (iii) 21,1 мг/мл аргинина гидрохлорида; и
- (iv) уксусную кислоту до pH 5,0.

В некоторых вариантах осуществления изобретения предлагается водная фармацевтическая композиция, содержащая:

- (i) 180 мг/мл левилимаба;
- (ii) 1,744 мг/мл натрия ацетата тригидрата;
- (iii) 21,1 мг/мл аргинина гидрохлорида; и
- (iv) уксусную кислоту до pH 5,0.

В некоторых вариантах осуществления изобретения предлагается водная фармацевтическая композиция, содержащая:

- (i) 2 00 мг/мл левилимаба;
- (ii) 1,744 мг/мл натрия ацетата тригидрата;
- (iii) 21,1 мг/мл аргинина гидрохлорида; и
- (iv) уксусную кислоту до pH 5,0.

В некоторых вариантах осуществления изобретения предлагается водная фармацевтическая композиция, содержащая:

- (i) 220 мг/мл левилимаба;
- (ii) 1,744 мг/мл натрия ацетата тригидрата;
- (iii) 21,1 мг/мл аргинина гидрохлорида; и
- (iv) уксусную кислоту до pH 5,0.

В одном из аспектов настоящее изобретение относится к водной фармацевтической композиции левилимаба, содержащей:

- (i) 162 мг левилимаба;
- (ii) 0,392 мг натрия ацетата тригидрата;
- (iii) 20,7 мг маннитола или сорбитола;
- (iv) 6,75 мг глицина;
- (v) уксусную кислоту до pH 5,0; и
- (vi) воду для инъекций до 0,9 мл.

В одном из аспектов настоящее изобретение относится к водной фармацевтической композиции левилимаба, содержащей:

- (i) 162 мг левилимаба;
- (ii) 1,57 мг натрия ацетата тригидрата;
- (iii) 18,99 мг аргинина гидрохлорида;
- (iv) уксусную кислоту до pH 5,0; и
- (v) воду для инъекций до 0,9 мл.

В одном из аспектов настоящее изобретение относится к водной фармацевтической композиции левилимаба, содержащей:

Состав на 0,9 мл:

- (i) 162 мг левилимаба;
- (ii) 0,392 мг натрия ацетата тригидрата;
- (iii) 20,7 мг маннитола или сорбитола;
- (iv) 6,75 мг глицина;
- (v) уксусную кислоту до pH 5,0; и
- (vi) воду для инъекций до 0,9 мл.

В одном из аспектов настоящее изобретение относится к водной фармацевтической композиции левилимаба, содержащей:

Состав на 0,9 мл:

- (i) 162 мг левилимаба;
- (ii) 1,57 мг натрия ацетата тригидрата;
- (iii) 18,99 мг аргинина гидрохлорида;
- (iv) уксусную кислоту до pH 5,0; и
- (v) воду для инъекций до 0,9 мл.

В некоторых вариантах осуществления изобретения указанная уксусная кислота является ледяной уксусной кислотой.

В некоторых вариантах осуществления изобретения указанная водная фармацевтическая композиция левилимаба по настоящему изобретению предназначена для парентерального введения.

В некоторых вариантах осуществления изобретения указанная водная фармацевтическая композиция левилимаба по настоящему изобретению предназначена для внутримышечного, внутривенного или подкожного введения.

В некоторых вариантах осуществления изобретения указанная водная фармацевтическая композиция левилимаба по настоящему изобретению может быть введена внутривенно в виде инфузии.

Фармацевтические композиции по настоящему изобретению можно хранить в любом подходящем для этого сосуде. Например, стеклянные или полимерные контейнер, флакон, ампула, шприц, картридж, автоинжектор или бутылка необходимого объема.

В некоторых вариантах осуществления изобретения указанная водная фармацевтическая композиция во флаконе.

В некоторых вариантах осуществления изобретения указанный флакон представляет собой стеклянный или полимерный флакон.

В некоторых вариантах осуществления изобретения указанный флакон имеет объем 4-20 мл.

В некоторых вариантах осуществления изобретения указанный флакон имеет объем 1 мл, 2 мл, 3 мл, 4 мл, 5 мл, 6 мл, 7 мл, 8 мл, 9 мл, 10 мл, 15 мл или 20 мл.

В некоторых вариантах осуществления изобретения указанная водная фармацевтическая композиция находится в шприце или автоинжекторе.

В некоторых вариантах осуществления изобретения указанный шприц или автоинжектор является стеклянным или полимерным.

В некоторых вариантах осуществления изобретения указанный шприц или автоинжектор имеет вместимость 0,9 мл.

В некоторых вариантах осуществления изобретения указанный шприц или автоинжектор имеет вместимость 1 мл.

В некоторых вариантах осуществления изобретения указанный шприц или автоинжектор имеет вместимость 2 мл.

В некоторых вариантах осуществления изобретения указанный шприц или автоинжектор может быть объемом 1 мл с номинальным объемом 0,9 мл.

В некоторых вариантах осуществления изобретения указанная водная фармацевтическая композиция находится в преднаполненном шприце или в преднаполненном автоинжекторе.

В некоторых вариантах осуществления изобретения указанный преднаполненный шприц или в преднаполненный автоинжектор является стеклянным или полимерным.

В некоторых вариантах осуществления изобретения указанный предзаполненный шприц или предзаполненный автоинжектор имеет вместимость 0,9 мл.

В некоторых вариантах осуществления изобретения указанный предзаполненный шприц или предзаполненный автоинжектор имеет вместимость 1 мл.

В некоторых вариантах осуществления изобретения указанный предзаполненный шприц или предзаполненный автоинжектор имеет вместимость 2 мл.

В некоторых вариантах осуществления изобретения указанный предзаполненный шприц или предзаполненный автоинжектор может быть объемом 1 мл с номинальным объемом 0,9 мл.

В одном варианте осуществления настоящее изобретение относится к применению водной фармацевтической композиции левелимаба по настоящему изобретению для лечения или профилактики IL6R-ассоциированных заболеваний или нарушений.

В одном варианте осуществления настоящее изобретение относится к применению водной фармацевтической композиции левелимаба, содержащей:

- (i) 5-220 мг/мл левелимаба;
- (ii) 0,4-1,8 мг/мл натрия ацетата тригидрата;
- (iii) 20-50 мг/мл полиола;
- (iv) 5-10 мг/мл глицина; и
- (v) уксусную кислоту до pH 4,5-6,5

для лечения или профилактики IL6R-ассоциированных заболеваний или нарушений.

В одном варианте осуществления настоящее изобретение относится к применению водной фармацевтической композиции левелимаба, содержащей:

- (i) 20 мг/мл левелимаба;
- (ii) 0,436 мг/мл натрия ацетата тригидрата;
- (iii) 23 мг/мл полиола, выбранного из маннитола или сорбитола;
- (iv) 7,5 мг/мл глицина; и
- (v) уксусную кислоту до pH 5,0

для лечения или профилактики IL6R-ассоциированных заболеваний или нарушений.

В одном варианте осуществления настоящее изобретение относится к применению водной фармацевтической композиции левелимаба, содержащей:

- (i) 180 мг/мл левелимаба;
- (ii) 0,436 мг/мл натрия ацетата тригидрата;
- (iii) 23 мг/мл полиола, выбранного из маннитола или сорбитола;
- (iv) 7,5 мг/мл глицина; и
- (v) уксусную кислоту до pH 5,0

для лечения или профилактики IL6R-ассоциированных заболеваний или нарушений.

В одном варианте осуществления настоящее изобретение относится к применению водной фарма-

цветической композиции левилимаба, содержащей:

- (i) 5-220 мг/мл левилимаба;
- (ii) 0,4-1,8 мг/мл натрия ацетата тригидрата;
- (iii) 10-32 мг/мл аргинина гидрохлорида; и
- (iv) уксусную кислоту до pH 4,5-6,5

для лечения или профилактики IL6R-ассоциированных заболеваний или нарушений.

В одном варианте осуществления настоящее изобретение относится к применению водной фармацевтической композиции левилимаба, содержащей:

- (i) 20 мг/мл левилимаба;
- (ii) 1,744 мг/мл натрия ацетата тригидрата;
- (iii) 21,1 мг/мл аргинина гидрохлорида; и
- (iv) уксусную кислоту до pH 5,0,

для лечения или профилактики IL6R-ассоциированных заболеваний или нарушений.

В одном варианте осуществления настоящее изобретение относится к применению водной фармацевтической композиции левилимаба, содержащей:

- (i) 180 мг/мл левилимаба;
- (ii) 1,744 мг/мл натрия ацетата тригидрата;
- (iii) 21,1 мг/мл аргинина гидрохлорида; и
- (iv) уксусную кислоту до pH 5,0,

для лечения или профилактики IL6R-ассоциированных заболеваний или нарушений.

В одном варианте осуществления настоящее изобретение относится к применению водной фармацевтической композиции левилимаба, содержащей:

- (i) 162 мг левилимаба;
- (ii) 0,392 мг натрия ацетата тригидрата;
- (iii) 20,7 мг полиола, выбранного из маннитола или сорбитола;
- (iv) 6,75 мг глицина;
- (v) уксусную кислоту до pH 5,0; и
- (vi) воду для инъекций до 0,9 мл,

для лечения или профилактики IL6R-ассоциированных заболеваний или нарушений.

В одном варианте осуществления настоящее изобретение относится к применению водной фармацевтической композиции левилимаба, содержащей:

- (i) 162 мг левилимаба;
- (ii) 1,57 мг натрия ацетата тригидрата;
- (iii) 18,99 мг аргинина гидрохлорида;
- (iv) уксусную кислоту до pH 5,0; и
- (v) воду для инъекций до 0,9 мл,

для лечения или профилактики IL6R-ассоциированных заболеваний или нарушений.

В некоторых вариантах осуществления изобретения указанное IL6R-ассоциированное заболевание или нарушение выбрано из: ревматоидного артрита, ювенильного хронического артрита, склеродермии, реакции "трансплантат против хозяина", отторжения трансплантата органа, острого или хронического иммунного заболевания, связанного с трансплантацией органа, кахексии, взрослого (острого) респираторного дистресс-синдрома, синдрома выброса цитокинов (синдром высвобождения цитокинов), болезни Стилла, системной склеродермии, синдрома Шегрена, болезни/артериита Такаясу, нарушений, связанных с цитокиновой терапией, иридоциклита, увеита, оптического неврита, оптического нейромиелита, ювенильного ревматоидного артрита, гигантоклеточного артериита, полиартикулярного ювенильного идиопатического артрита, системного ювенильного идиопатического артрита; рака, в частности, множественной миеломы и злокачественных солидных опухолей, колоректального рака, рака предстательной железы, рака яичника.

В некоторых вариантах осуществления изобретения применение водной фармацевтической композиции левилимаба по настоящему изобретению может включать введение данной композиции парентерально.

В некоторых вариантах осуществления изобретения применение водной фармацевтической композиции левилимаба по настоящему изобретению может включать введение данной композиции внутримышечно, внутривенно или подкожно.

В некоторых вариантах осуществления изобретения применение водной фармацевтической композиции левилимаба по настоящему изобретению может включать введение данной композиции внутривенно в виде инфузии.

В одном варианте осуществления настоящее изобретение относится к применению водной фармацевтической композиции левилимаба по настоящему изобретению для лечения ревматоидного артрита.

В одном варианте осуществления настоящее изобретение относится к применению водной фармацевтической композиции левилимаба, содержащей:

- (i) 5-220 мг/мл левилимаба;

- (ii) 0,4-1,8 мг/мл натрия ацетата тригидрата;
- (iii) 20-50 мг/мл полиола;
- (iv) 5-10 мг/мл глицина; и
- (v) уксусную кислоту до pH 4,5-6,5,

для лечения ревматоидного артрита.

В одном варианте осуществления настоящее изобретение относится к применению водной фармацевтической композиции левалимаба, содержащей:

- (i) 20 мг/мл левалимаба;
- (ii) 0,436 мг/мл натрия ацетата тригидрата;
- (iii) 23 мг/мл полиола, выбранного из маннитола или сорбитола;
- (iv) 7,5 мг/мл глицина; и
- (v) уксусную кислоту до pH 5,0,

для лечения ревматоидного артрита.

В одном варианте осуществления настоящее изобретение относится к применению водной фармацевтической композиции левалимаба, содержащей:

- (i) 180 мг/мл левалимаба;
- (ii) 0,436 мг/мл натрия ацетата тригидрата;
- (iii) 23 мг/мл полиола, выбранного из маннитола или сорбитола;
- (iv) 7,5 мг/мл глицина; и
- (v) уксусную кислоту до pH 5,0,

для лечения ревматоидного артрита.

В одном варианте осуществления настоящее изобретение относится к применению водной фармацевтической композиции левалимаба, содержащей:

- (i) 5-220 мг/мл левалимаба;
- (ii) 0,4-1,8 мг/мл натрия ацетата тригидрата;
- (iii) 10-32 мг/мл аргинина гидрохлорида; и
- (iv) уксусную кислоту до pH 4,5-6,5,

для лечения ревматоидного артрита.

В одном варианте осуществления настоящее изобретение относится к применению водной фармацевтической композиции левалимаба, содержащей:

- (i) 20 мг/мл левалимаба;
- (ii) 1,744 мг/мл натрия ацетата тригидрата;
- (iii) 21,1 мг/мл аргинина гидрохлорида; и
- (iv) уксусную кислоту до pH 5,0,

для лечения ревматоидного артрита.

В одном варианте осуществления настоящее изобретение относится к применению водной фармацевтической композиции левалимаба, содержащей:

- (i) 180 мг/мл левалимаба;
- (ii) 1,744 мг/мл натрия ацетата тригидрата;
- (iii) 21,1 мг/мл аргинина гидрохлорида; и
- (iv) уксусную кислоту до pH 5,0,

для лечения ревматоидного артрита.

В одном варианте осуществления настоящее изобретение относится к применению водной фармацевтической композиции левалимаба, содержащей:

- (i) 162 мг левалимаба;
- (ii) 0,392 мг натрия ацетата тригидрата;
- (iii) 20,7 мг полиола, выбранного из маннитола или сорбитола;
- (iv) 6,75 мг глицина;
- (v) уксусную кислоту до pH 5,0; и
- (vi) воду для инъекций до 0,9 мл,

для лечения ревматоидного артрита.

В одном варианте осуществления настоящее изобретение относится к применению водной фармацевтической композиции левалимаба, содержащей:

- (i) 162 мг левалимаба;
- (ii) 1,57 мг натрия ацетата тригидрата;
- (iii) 18,99 мг аргинина гидрохлорида;
- (iv) уксусную кислоту до pH 5,0; и
- (v) воду для инъекций до 0,9 мл,

для лечения ревматоидного артрита.

В некоторых вариантах осуществления изобретения применение водной фармацевтической композиции левалимаба по настоящему изобретению для лечения ревматоидного артрита может включать введение данной композиции в дозе левалимаба 162 мг.

В некоторых вариантах осуществления изобретения применение водной фармацевтической композиции левалимаба по настоящему изобретению для лечения ревматоидного артрита может включать введение данной композиции один раз в неделю или один раз каждые две недели.

В некоторых вариантах осуществления изобретения применение водной фармацевтической композиции левалимаба по настоящему изобретению для лечения ревматоидного артрита может включать введение данной композиции в месячной дозе левалимаба 4 мг/кг массы тела.

В некоторых вариантах осуществления изобретения применение водной фармацевтической композиции левалимаба по настоящему изобретению для лечения ревматоидного артрита может включать введение данной композиции в месячной дозе левалимаба 8 мг/кг массы тела.

В некоторых вариантах осуществления изобретения применение водной фармацевтической композиции левалимаба по настоящему изобретению для лечения ревматоидного артрита может включать введение данной композиции парентерально.

В некоторых вариантах осуществления изобретения применение водной фармацевтической композиции левалимаба по настоящему изобретению для лечения ревматоидного артрита может включать введение данной композиции внутримышечно, внутривенно или подкожно.

В некоторых вариантах осуществления изобретения применение водной фармацевтической композиции левалимаба по настоящему изобретению для лечения ревматоидного артрита может включать введение данной композиции внутривенно в виде инфузии.

В некоторых вариантах осуществления изобретения применение водной фармацевтической композиции левалимаба по настоящему изобретению для лечения ревматоидного артрита может включать дополнительно применение метотрексата.

В одном варианте осуществления настоящее изобретение относится к применению водной фармацевтической композиции левалимаба по настоящему изобретению для лечения активного ревматоидного артрита.

В одном варианте осуществления настоящее изобретение относится к применению водной фармацевтической композиции левалимаба, содержащей:

- (i) 5-220 мг/мл левалимаба;
- (ii) 0,4-1,8 мг/мл натрия ацетата тригидрата;
- (iii) 20-50 мг/мл полиола;
- (iv) 5-10 мг/мл глицина; и
- (v) уксусную кислоту до pH 4,5-6,5,

для лечения активного ревматоидного артрита.

В одном варианте осуществления настоящее изобретение относится к применению водной фармацевтической композиции левалимаба, содержащей:

- (i) 20 мг/мл левалимаба;
- (ii) 0,436 мг/мл натрия ацетата тригидрата;
- (iii) 23 мг/мл полиола, выбранного из маннитола или сорбитола;
- (iv) 7,5 мг/мл глицина; и
- (v) уксусную кислоту до pH 5,0,

для лечения активного ревматоидного артрита.

В одном варианте осуществления настоящее изобретение относится к применению водной фармацевтической композиции левалимаба, содержащей:

- (i) 180 мг/мл левалимаба;
- (ii) 0,436 мг/мл натрия ацетата тригидрата;
- (iii) 23 мг/мл полиола, выбранного из маннитола или сорбитола;
- (iv) 7,5 мг/мл глицина; и
- (v) уксусную кислоту до pH 5,0,

для лечения активного ревматоидного артрита.

В одном варианте осуществления настоящее изобретение относится к применению водной фармацевтической композиции левалимаба, содержащей:

- (i) 5-220 мг/мл левалимаба;
- (ii) 0,4-1,8 мг/мл натрия ацетата тригидрата;
- (iii) 10-32 мг/мл аргинина гидрохлорида; и
- (iv) уксусную кислоту до pH 4,5-6,5,

для лечения активного ревматоидного артрита.

В одном варианте осуществления настоящее изобретение относится к применению водной фармацевтической композиции левалимаба, содержащей:

- (i) 20 мг/мл левалимаба;
- (ii) 1,744 мг/мл натрия ацетата тригидрата;
- (iii) 21,1 мг/мл аргинина гидрохлорида; и
- (iv) уксусную кислоту до pH 5,0,

для лечения активного ревматоидного артрита.

В одном варианте осуществления настоящее изобретение относится к применению водной фармацевтической композиции левалимаба, содержащей:

- (i) 180 мг/мл левалимаба;
- (ii) 1,744 мг/мл натрия ацетата тригидрата;
- (iii) 21,1 мг/мл аргинина гидрохлорида; и
- (iv) уксусную кислоту до pH 5,0,

для лечения активного ревматоидного артрита.

В одном варианте осуществления настоящее изобретение относится к применению водной фармацевтической композиции левалимаба, содержащей:

- (i) 162 мг левалимаба;
- (ii) 0,392 мг натрия ацетата тригидрата;
- (iii) 20,7 мг полиола, выбранного из маннитола или сорбитола;
- (iv) 6,75 мг глицина;
- (v) уксусную кислоту до pH 5,0; и
- (vi) воду для инъекций до 0,9 мл,

для лечения активного ревматоидного артрита.

В одном варианте осуществления настоящее изобретение относится к применению водной фармацевтической композиции левалимаба, содержащей:

- (i) 162 мг левалимаба;
- (ii) 1,57 мг натрия ацетата тригидрата;
- (iii) 18,99 мг аргинина гидрохлорида;
- (iv) уксусную кислоту до pH 5,0; и
- (v) воду для инъекций до 0,9 мл,

для лечения активного ревматоидного артрита.

В некоторых вариантах осуществления изобретения применение водной фармацевтической композиции левалимаба по настоящему изобретению для лечения активного ревматоидного артрита может включать введение данной композиции в дозе левалимаба 324 мг или 648 мг.

В некоторых вариантах осуществления изобретения применение водной фармацевтической композиции левалимаба по настоящему изобретению для лечения активного ревматоидного артрита может включать введение данной композиции в дозе левалимаба 4 мг/кг массы тела.

В некоторых вариантах осуществления изобретения применение водной фармацевтической композиции левалимаба по настоящему изобретению для лечения активного ревматоидного артрита может включать введение данной композиции в дозе левалимаба 8 мг/кг массы тела.

В некоторых вариантах осуществления изобретения применение водной фармацевтической композиции левалимаба по настоящему изобретению для лечения активного ревматоидного артрита может включать введение данной композиции 1 раз в 2 недели, или 1 раз в 4 недели, или 1 раз в 6 недель.

В некоторых вариантах осуществления изобретения применение водной фармацевтической композиции левалимаба по настоящему изобретению для лечения активного ревматоидного артрита может включать введение данной композиции парентерально.

В некоторых вариантах осуществления изобретения применение водной фармацевтической композиции левалимаба по настоящему изобретению для лечения активного ревматоидного артрита может включать введение данной композиции внутримышечно, внутривенно или подкожно.

В некоторых вариантах осуществления изобретения применение водной фармацевтической композиции левалимаба по настоящему изобретению для лечения активного ревматоидного артрита может включать введение данной композиции внутривенно в виде инфузии.

В некоторых вариантах осуществления изобретения применение водной фармацевтической композиции левалимаба по настоящему изобретению для лечения активного ревматоидного артрита может включать дополнительно применение метотрексата.

В одном варианте осуществления настоящее изобретение относится к применению водной фармацевтической композиции левалимаба по настоящему изобретению для лечения или профилактики взрослого (острого) респираторного дистресс-синдрома или синдрома выброса цитокинов (синдром высвобождения цитокинов).

В одном варианте осуществления настоящее изобретение относится к применению водной фармацевтической композиции левалимаба, содержащей:

- (i) 5-220 мг/мл левалимаба;
- (ii) 0,4-1,8 мг/мл натрия ацетата тригидрата;
- (iii) 20-50 мг/мл полиола;
- (iv) 5-10 мг/мл глицина; и
- (v) уксусную кислоту до pH 4,5-6,5.

для лечения или профилактики взрослого (острого) респираторного дистресс-синдрома или синдрома выброса цитокинов (синдром высвобождения цитокинов).

В одном варианте осуществления настоящее изобретение относится к применению водной фарма-

цветоческой композиции левилимаба, содержащей:

- (i) 20 мг/мл левилимаба;
- (ii) 0,436 мг/мл натрия ацетата тригидрата;
- (iii) 23 мг/мл полиола, выбранного из маннитола или сорбитола;
- (iv) 7,5 мг/мл глицина; и
- (v) уксусную кислоту до pH 5,0,

для лечения или профилактики взрослого (острого) респираторного дистресс-синдрома или синдрома выброса цитокинов (синдром высвобождения цитокинов).

В одном варианте осуществления настоящее изобретение относится к применению водной фармацевтической композиции левилимаба, содержащей:

- (i) 180 мг/мл левилимаба;
- (ii) 0,436 мг/мл натрия ацетата тригидрата;
- (iii) 23 мг/мл полиола, выбранного из маннитола или сорбитола;
- (iv) 7,5 мг/мл глицина; и
- (v) уксусную кислоту до pH 5,0,

для лечения или профилактики взрослого (острого) респираторного дистресс-синдрома или синдрома выброса цитокинов (синдром высвобождения цитокинов).

В одном варианте осуществления настоящее изобретение относится к применению водной фармацевтической композиции левилимаба, содержащей:

- (i) 5-220 мг/мл левилимаба;
- (ii) 0,4-1,8 мг/мл натрия ацетата тригидрата;
- (iii) 10-32 мг/мл аргинина гидрохлорида; и
- (iv) уксусную кислоту до pH 4,5-6,5,

для лечения или профилактики взрослого (острого) респираторного дистресс-синдрома или синдрома выброса цитокинов (синдром высвобождения цитокинов).

В одном варианте осуществления настоящее изобретение относится к применению водной фармацевтической композиции левилимаба, содержащей:

- (i) 20 мг/мл левилимаба;
- (ii) 1,744 мг/мл натрия ацетата тригидрата;
- (iii) 21,1 мг/мл аргинина гидрохлорида; и
- (iv) уксусную кислоту до pH 5,0

для лечения или профилактики взрослого (острого) респираторного дистресс-синдрома или синдрома выброса цитокинов (синдром высвобождения цитокинов).

В одном варианте осуществления настоящее изобретение относится к применению водной фармацевтической композиции левилимаба, содержащей:

- (i) 180 мг/мл левилимаба;
- (ii) 1,744 мг/мл натрия ацетата тригидрата;
- (iii) 21,1 мг/мл аргинина гидрохлорида; и
- (iv) уксусную кислоту до pH 5,0,

для лечения или профилактики взрослого (острого) респираторного дистресс-синдрома или синдрома выброса цитокинов (синдром высвобождения цитокинов).

В одном варианте осуществления настоящее изобретение относится к применению водной фармацевтической композиции левилимаба, содержащей:

- (i) 162 мг левилимаба;
- (ii) 0,392 мг натрия ацетата тригидрата;
- (iii) 20,7 мг полиола, выбранного из маннитола или сорбитола;
- (iv) 6,75 мг глицина;
- (v) уксусную кислоту до pH 5,0; и
- (vi) воду для инъекций до 0,9 мл,

для лечения или профилактики взрослого (острого) респираторного дистресс-синдрома или синдрома выброса цитокинов (синдром высвобождения цитокинов).

В одном варианте осуществления настоящее изобретение относится к применению водной фармацевтической композиции левилимаба, содержащей:

- (i) 162 мг левилимаба;
- (ii) 1,57 мг натрия ацетата тригидрата;
- (iii) 18,99 мг аргинина гидрохлорида;
- (iv) уксусную кислоту до pH 5,0; и
- (v) воду для инъекций до 0,9 мл,

для лечения или профилактики взрослого (острого) респираторного дистресс-синдрома или синдрома выброса цитокинов (синдром высвобождения цитокинов).

В некоторых вариантах осуществления изобретения применение водной фармацевтической композиции левилимаба по настоящему изобретению для лечения или профилактики взрослого (острого) рес-

пираторного дистресс-синдрома или синдрома выброса цитокинов (синдром высвобождения цитокинов) может включать введение данной композиции в дозе левилимаба 324 мг или 648 мг.

В некоторых вариантах осуществления изобретения применение водной фармацевтической композиции левилимаба по настоящему изобретению для лечения или профилактики взрослого (острого) респираторного дистресс-синдрома или синдрома выброса цитокинов (синдром высвобождения цитокинов) может включать введение данной композиции в дозе левилимаба 4 мг/кг массы тела.

В некоторых вариантах осуществления изобретения применение водной фармацевтической композиции левилимаба по настоящему изобретению для лечения или профилактики взрослого (острого) респираторного дистресс-синдрома или синдрома выброса цитокинов (синдром высвобождения цитокинов) может включать введение данной композиции в дозе левилимаба 8 мг/кг массы тела.

В некоторых вариантах осуществления изобретения применение водной фармацевтической композиции левилимаба по настоящему изобретению для лечения или профилактики взрослого (острого) респираторного дистресс-синдрома или синдрома выброса цитокинов (синдром высвобождения цитокинов) может включать введение данной композиции однократно, или двукратно, или трехкратно, или четырехкратно с интервалом минимум 8 ч.

В некоторых вариантах осуществления изобретения применение водной фармацевтической композиции левилимаба по настоящему изобретению для лечения или профилактики взрослого (острого) респираторного дистресс-синдрома или синдрома выброса цитокинов (синдром высвобождения цитокинов) может включать введение данной композиции парентерально.

В некоторых вариантах осуществления изобретения применение водной фармацевтической композиции левилимаба по настоящему изобретению для лечения или профилактики взрослого (острого) респираторного дистресс-синдрома или синдрома выброса цитокинов (синдром высвобождения цитокинов) может включать введение данной композиции внутримышечно, внутривенно или подкожно.

В некоторых вариантах осуществления изобретения применение водной фармацевтической композиции левилимаба по настоящему изобретению для лечения или профилактики взрослого (острого) респираторного дистресс-синдрома или синдрома выброса цитокинов (синдром высвобождения цитокинов) может включать введение данной композиции внутривенно в виде инфузии.

В одном варианте осуществления настоящее изобретение относится к способу лечения или профилактики IL6R-ассоциированных заболеваний или нарушения, включающему введение субъекту, нуждающемуся в такой профилактике или лечении, терапевтически эффективного количества водной фармацевтической композиции левилимаба по настоящему изобретению.

В некоторых вариантах осуществления изобретения указанное IL6R-ассоциированное заболевание или нарушение выбрано из: ревматоидного артрита, ювенильного хронического артрита, склеродермии, реакции "трансплантат против хозяина", отторжения трансплантата органа, острого или хронического иммунного заболевания, связанного с трансплантацией органа, кахексии, взрослого (острого) респираторного дистресс-синдрома, болезни Стилла, системной склеродермии, синдрома Шегрена, болезни/артериита Такаясу, нарушений, связанных с цитокиновой терапией, синдрома выброса цитокинов (синдром высвобождения цитокинов), иридоциклита, увеита, оптического неврита, оптического нейромиелита, ювенильного ревматоидного артрита, гигантоклеточного артериита, полиартикулярного ювенильного идиопатического артрита, системного ювенильного идиопатического артрита; рака, в частности, множественной миеломы и злокачественных солидных опухолей, колоректального рака, рака предстательной железы, рака яичника.

В некоторых вариантах осуществления изобретения способ лечения или профилактики IL6R-ассоциированного заболевания или нарушения у нуждающегося в этом субъекта может включать введение терапевтически эффективного количества водной фармацевтической композиции левилимаба по настоящему изобретению парентерально.

В некоторых вариантах осуществления изобретения способ лечения или профилактики IL6R-ассоциированного заболевания или нарушения у нуждающегося в этом субъекта может включать введение терапевтически эффективного количества водной фармацевтической композиции левилимаба по настоящему изобретению внутримышечно, внутривенно или подкожно.

В некоторых вариантах осуществления изобретения способ лечения или профилактики IL6R-ассоциированного заболевания или нарушения у нуждающегося в этом субъекта может включать введение терапевтически эффективного количества водной фармацевтической композиции левилимаба по настоящему изобретению внутривенно в виде инфузии.

В одном варианте осуществления настоящее изобретение относится к способу лечения ревматоидного артрита, включающему введение субъекту, нуждающемуся в такой профилактике или лечении, терапевтически эффективного количества водной фармацевтической композиции левилимаба по настоящему изобретению.

В некоторых вариантах осуществления изобретения способ лечения ревматоидного артрита у нуждающегося в этом субъекта может включать введение водной фармацевтической композиции левилимаба по настоящему изобретению в дозе левилимаба 162 мг.

В некоторых вариантах осуществления изобретения способ лечения ревматоидного артрита у нуж-

композиции левилимаба по настоящему изобретению в дозе левилимаба 8 мг/кг массы тела.

В некоторых вариантах осуществления изобретения способ лечения или профилактики взрослого (острого) респираторного дистресс-синдрома или синдрома выброса цитокинов (синдром высвобождения цитокинов) у нуждающегося в этом субъекта может включать введение водной фармацевтической композиции левилимаба по настоящему изобретению однократно, или двукратно, или трехкратно, или четырехкратно с интервалом минимум 8 ч.

В некоторых вариантах осуществления изобретения способ лечения или профилактики взрослого (острого) респираторного дистресс-синдрома или синдрома выброса цитокинов (синдром высвобождения цитокинов) у нуждающегося в этом субъекта может включать введение водной фармацевтической композиции левилимаба по настоящему изобретению парентерально.

В некоторых вариантах осуществления изобретения способ лечения или профилактики взрослого (острого) респираторного дистресс-синдрома или синдрома выброса цитокинов (синдром высвобождения цитокинов) у нуждающегося в этом субъекта может включать введение водной фармацевтической композиции левилимаба по настоящему изобретению внутримышечно, внутривенно или подкожно.

В некоторых вариантах осуществления изобретения способ лечения или профилактики взрослого (острого) респираторного дистресс-синдрома или синдрома выброса цитокинов (синдром высвобождения цитокинов) у нуждающегося в этом субъекта может включать введение водной фармацевтической композиции левилимаба по настоящему изобретению внутривенно в виде инфузии.

В одном варианте осуществления настоящее изобретение относится к водной фармацевтической композиции левилимаба по настоящему изобретению для применения для лечения или профилактики IL6R-ассоциированного заболевания или нарушения.

В некоторых вариантах осуществления изобретения указанное IL6R-ассоциированное заболевание или нарушение выбрано из: ревматоидного артрита, ювенильного хронического артрита, склеродермии, реакции "трансплантат против хозяина", отторжения трансплантата органа, острого или хронического иммунного заболевания, связанного с трансплантацией органа, кахексии, взрослого (острого) респираторного дистресс-синдрома, болезни Стилла, системной склеродермии, синдрома Шегрена, болезни/артериита Такаясу, нарушений, связанных с цитокиновой терапией, синдрома выброса цитокинов (синдром высвобождения цитокинов), иридоциклита, увеита, оптического неврита, оптического нейромиелита, ювенильного ревматоидного артрита, гигантоклеточного артериита, полиартикулярного ювенильного идиопатического артрита, системного ювенильного идиопатического артрита; рака, в частности, множественной миеломы и злокачественных солидных опухолей, колоректального рака, рака предстательной железы, рака яичника.

В некоторых вариантах осуществления изобретения водная фармацевтическая композиция левилимаба по настоящему изобретению для применения для лечения или профилактики IL6R-ассоциированного заболевания или нарушения может вводиться парентерально.

В некоторых вариантах осуществления изобретения водная фармацевтическая композиция левилимаба по настоящему изобретению для применения для лечения или профилактики IL6R-ассоциированного заболевания или нарушения может вводиться внутримышечно, внутривенно или подкожно.

В некоторых вариантах осуществления изобретения водная фармацевтическая композиция левилимаба по настоящему изобретению для применения для лечения или профилактики IL6R-ассоциированного заболевания или нарушения может вводиться внутривенно в виде инфузии.

В одном варианте осуществления настоящее изобретение относится к водной фармацевтической композиции левилимаба по настоящему изобретению для применения для лечения ревматоидного артрита.

В некоторых вариантах осуществления изобретения водная фармацевтическая композиция левилимаба по настоящему изобретению для применения для лечения ревматоидного артрита может вводиться в дозе левилимаба 162 мг.

В некоторых вариантах осуществления изобретения водная фармацевтическая композиция левилимаба по настоящему изобретению для применения для лечения ревматоидного артрита может вводиться один раз в неделю или один раз каждые две недели.

В некоторых вариантах осуществления изобретения водная фармацевтическая композиция левилимаба по настоящему изобретению для применения для лечения ревматоидного артрита может вводиться в дозе левилимаба 4 мг/кг массы тела.

В некоторых вариантах осуществления изобретения водная фармацевтическая композиция левилимаба по настоящему изобретению для применения для лечения ревматоидного артрита может вводиться в дозе левилимаба 8 мг/кг массы тела.

В некоторых вариантах осуществления изобретения водная фармацевтическая композиция левилимаба по настоящему изобретению для применения для лечения ревматоидного артрита может вводиться парентерально.

В некоторых вариантах осуществления изобретения водная фармацевтическая композиция левилимаба по настоящему изобретению для применения для лечения ревматоидного артрита может вводиться

нов) может вводиться внутримышечно, внутривенно или подкожно.

В некоторых вариантах осуществления изобретения водная фармацевтическая композиция левелимаба по настоящему изобретению для применения для лечения или профилактики взрослого (острого) респираторного дистресс-синдрома или синдрома выброса цитокинов (синдром высвобождения цитокинов) может вводиться внутривенно в виде инфузии.

В одном из аспектов настоящее изобретение относится к способу получения водной фармацевтической композиции левелимаба, включающему комбинирование

5-220 мг/мл левелимаба с 0,4-1,8 мг/мл натрия ацетата тригидрата;

20-50 мг/мл полиола;

5-10 мг/мл глицина; и

уксусной кислотой до pH 4,5-6,5.

В одном из аспектов настоящее изобретение относится к способу получения водной фармацевтической композиции левелимаба, включающему комбинирование

5-220 мг/мл левелимаба с 0,4-1,8 мг/мл натрия ацетата тригидрата;

10-32 мг/мл аргинина гидрохлорида; и

уксусной кислотой до pH 4,5-6,5.

В одном из аспектов настоящее изобретение к способу получения водной фармацевтической композиции левелимаба, где указанная уксусная кислота является ледяной уксусной кислотой.

Настоящее изобретение относится к подходящим водным фармацевтическим композициям анти-IL-6R антитела левелимаба. Одна водная фармацевтическая композиция может содержать левелимаб, буфер на основе ацетата, полиол, глицин и уксусную кислоту. Еще одна водная фармацевтическая композиция может содержать левелимаб, буфер на основе ацетата, аргинина гидрохлорид и уксусную кислоту.

Буфер на основе ацетата может быть образован за счет комбинирования уксусной кислоты с натрия ацетат тригидратом. Следует понимать, что хотя в качестве соли для буфера на основе ацетата можно использовать натрия ацетат тригидрат, для буфера на основе ацетата можно использовать любую другую ацетатную соль, например, ацетат калия, не отступая при этом от идей настоящего изобретения.

В водных фармацевтических композициях левелимаба по настоящему изобретению может быть использован аргинин, в частности, L-аргинин, или аргинина гидрохлорид.

Настоящее изобретение относится к применению водной фармацевтической композиции левелимаба по настоящему изобретению для лечения или профилактики IL6R-ассоциированного заболевания или нарушения.

Заболевания или нарушения, которые можно лечить предложенными в настоящем документе композициями состоят из, без ограничения, ревматоидного артрита, ювенильного хронического артрита, склеродермии, реакции "трансплантат против хозяина", отторжения трансплантата органа, острого или хронического иммунного заболевания, связанного с трансплантацией органа, кахексии, взрослого (острого) респираторного дистресс-синдрома, болезни Стилла, системной склеродермии, синдрома Шегрена, болезни/артериита Такаясу, нарушений, связанных с цитокиновой терапией, синдром выброса цитокинов (синдром высвобождения цитокинов), иридоциклита, увеита, оптического неврита, оптического нейромиелита, ювенильного ревматоидного артрита, гигантоклеточного артериита, полиартикулярного ювенильного идиопатического артрита, системного ювенильного идиопатического артрита; рака, в частности, множественной миеломы и злокачественных солидных опухолей, колоректального рака, рака предстательной железы, рака яичника.

Предоставляемые фармацевтические композиции можно вводить нуждающемуся в лечении индивидууму посредством системной инъекции, например, посредством внутривенной или подкожной, или внутримышечной инъекции; или посредством прямой инъекции.

Водная фармацевтическая композиция левелимаба по настоящему изобретению может быть использована после разведения. Для этого необходимое количество композиции из флакона переносят в ёмкость для инфузий, содержащую стерильный 0,9% раствор натрия хлорида или стерильный 5% раствор декстрозы. Приготовленный раствор перемешивают путем осторожного переворачивания емкости для инфузий во избежание пенообразования.

В одном варианте осуществления изобретения доза может быть доставлена посредством одной или более одной инфузий. Доза может быть доставлена посредством одной, двух или трех инфузий. В некоторых вариантах изобретения длительность терапии может составлять от одной или нескольких инфузий.

Терапевтически эффективное количество водных композиций, включающих левелимаб, по настоящему изобретению, в предлагаемых составах зависит от состояния, подлежащего лечению, тяжести состояния, предшествующей терапии и истории болезни пациента, и ответу на терапевтическое средство. Подходящую дозу можно регулировать по решению лечащего врача так, что ее можно вводить пациенту один раз или посредством нескольких введений.

В одном из вариантов осуществления эффективное количество левелимаба на дозу для пациента составляет приблизительно 4 мг/кг веса тела или 8 мг на килограмм веса тела.

Доза может быть доставлена посредством одной или более одной инъекции. Доза может быть доставлена посредством одной, двух или трех инъекций. Одна инъекция может содержать 0,9 мл, 1 мл,

1,8 мл или 2 мл раскрытой в настоящем документе композиции.

В одном варианте осуществления водная фармацевтическая композиция левелимаба по настоящему изобретению для применения для лечения ревматоидного артрита может быть введены в дозе левелимаба 162 мг посредством одной инъекции.

В одном варианте осуществления водная фармацевтическая композиция левелимаба по настоящему изобретению для применения для лечения активного ревматоидного артрита может быть введены в дозе 324 мг посредством одной инъекции.

В одном варианте осуществления водная фармацевтическая композиция левелимаба по настоящему изобретению для применения для лечения активного ревматоидного артрита может быть введены в дозе 324 мг посредством двух инъекции по 162 мг.

В одном варианте осуществления водная фармацевтическая композиция левелимаба по настоящему изобретению для применения для лечения активного ревматоидного артрита может быть введены в дозе 648 мг посредством одной инъекции.

В одном варианте осуществления водная фармацевтическая композиция левелимаба по настоящему изобретению для применения для лечения активного ревматоидного артрита может быть введены в дозе 648 мг посредством двух инъекции по 324 мг.

В одном варианте осуществления водная фармацевтическая композиция левелимаба по настоящему изобретению для применения для лечения активного ревматоидного артрита может быть введены в дозе 648 мг посредством четырех инъекции по 162 мг.

В одном варианте осуществления водная фармацевтическая композиция левелимаба по настоящему изобретению для применения для лечения или профилактики взрослого (острого) респираторного дистресс-синдрома или синдром выброса цитокинов (синдром высвобождения цитокинов) может быть введены в дозе 324 мг посредством одной инъекции.

В одном варианте осуществления водная фармацевтическая композиция левелимаба по настоящему изобретению для применения для лечения или профилактики взрослого (острого) респираторного дистресс-синдрома или синдром выброса цитокинов (синдром высвобождения цитокинов) может быть введены в дозе 324 мг посредством двух инъекции по 162 мг.

В одном варианте осуществления водная фармацевтическая композиция левелимаба по настоящему изобретению для применения для лечения или профилактики взрослого (острого) респираторного дистресс-синдрома или синдром выброса цитокинов (синдром высвобождения цитокинов) может быть введены в дозе 648 мг посредством одной инъекции.

В одном варианте осуществления водная фармацевтическая композиция левелимаба по настоящему изобретению для применения для лечения или профилактики взрослого (острого) респираторного дистресс-синдрома или синдром выброса цитокинов (синдром высвобождения цитокинов) может быть введены в дозе 648 мг посредством двух инъекции по 324 мг.

В одном варианте осуществления водная фармацевтическая композиция левелимаба по настоящему изобретению для применения для лечения или профилактики взрослого (острого) респираторного дистресс-синдрома или синдром выброса цитокинов (синдром высвобождения цитокинов) может быть введены в дозе 648 мг посредством четырех инъекции по 162 мг.

В другом варианте осуществления фармацевтические композиции по настоящему изобретению можно получать в виде нерасфасованного состава, и, по существу, компоненты фармацевтической композиции присутствуют в количествах выше, чем может требоваться для введения, и их соответствующим образом разбавляют до введения.

Альтернативно, фармацевтическая композиция может быть заморожена, высушена распылением, либо лиофилизована и восстановлена перед применением в подходящем стерильном носителе. Лиофилизация может быть выполнена с использованием способов, известных в данной области техники, которые включают в себя различные шаги, такие как замораживание, отжиг, первичная и вторичная сушка.

Фармацевтические композиции можно вводить в виде одного терапевтического средства или в комбинации с дополнительными терапевтическими средствами по мере необходимости. Таким образом, в одном варианте осуществления предлагаемые способы лечения и/или профилактики используют в комбинации с введением терапевтически эффективного количества другого активного средства. Другое активное средство можно вводить до, в течение или после введения фармацевтических композиций по настоящему изобретению. Другое активное средство можно вводить как часть предлагаемой композиции или, альтернативно, в виде отдельного состава.

Фармацевтические композиции при желании можно предоставлять во флаконе, упаковке или в устройстве-распределителе, которые могут содержать одну или несколько стандартных лекарственных форм, содержащих активный ингредиент. В одном варианте осуществления устройство-распределитель может содержать шприц, содержащий однократную дозу жидкого состава, готового к инъекции. Шприц может сопровождаться инструкцией по введению.

В другом варианте осуществления настоящее изобретение относится к набору или контейнеру, содержащим водную фармацевтическую композицию по изобретению. Набор также может сопровождаться инструкциями по применению.

Методики.

1. Получение образцов левилимаба.

Получение образцов антитела с концентрацией 5-20 мг/мл осуществляли в концентрационных ячейках Stirred Cell (Millipore) под давлением. Для этого антитело в исходном составе помещали в ячейку, при непрерывном перемешивании белок концентрировали под потоком сжатого воздуха до концентрации 10 мг/мл, после чего вносили в ячейку не менее чем 10 кратный объем водного раствора с целевым составом, включающим буферные, осмотические агенты и, если необходимо, дополнительные водорастворимые стабилизаторы. По завершении процесса диафильтрации антитело концентрировали до концентрации около 30 мг/мл, выгружали из ячейки, определяли точную концентрацию белка методом УФ-спектрофотометрии. Затем к образцу вносили соответствующий раствор вспомогательных веществ для получения раствора с целевой концентрацией белка.

Получение образцов белка с концентрацией более 20 мг/мл проводили в кассетах Pellicon (Millipore) в режиме тангенциального потока. Для этого антитело в исходном составе помещали в емкость для диафильтрации, концентрировали белок до концентрации около 45-50 мг/мл, после чего к системе подключали подачу не менее чем 10 кратного объема раствора с целевым составом, содержащим буферные агенты и, если необходимо, дополнительные водорастворимые стабилизаторы. По завершении процесса диафильтрации антитело концентрировали до концентрации 100 мг/мл, выгружали из системы, вносили осмотические агенты и стабилизаторы, продолжали концентрирование до концентрации, превышающей целевую, выгружали из системы и определяли точную концентрацию белка. Затем к образцу вносили соответствующий раствор вспомогательных веществ для получения раствора с целевой концентрацией белка.

При получении составов, содержащих солибутилизаторы, концентраты поверхностно-активных веществ вносили к антителу после завершения диафильтрации и концентрирования при финальном разведении антитела раствором вспомогательных веществ до целевой концентрации.

При асептическом наполнении в конечный контейнер (например, стерильный стеклянный или полимерный сосуд, флакон или шприц) раствор антитела фильтровали через стерилизующую мембрану с размером пор 0.22 мкм.

2. Определение концентрации белка в исследуемых образцах.

Концентрацию белка определяли с помощью метода УФ-спектрофотометрии при длине волны 280 нм в УФ-прозрачных планшетах.

Каждый образец разводили соответствующим раствором вспомогательных веществ до концентрации ~ 0.5 мг/мл. В лунку планшета для УФ-спектрофотометрии помещали 150 мкл разведенного образца. Измеряли оптическую плотность помещенных в планшет растворов на планшетном спектрофотометре при длине волны 280 нм. В качестве раствора сравнения использовали соответствующий раствор вспомогательных веществ.

Концентрацию белка (C) в мг/мл рассчитывали по формуле

$$C = \frac{A(280) \cdot b}{\epsilon \cdot l}$$

где A_{280} - значение оптической плотности при длине волны 280 нм;

s - коэффициент экстинкции исследуемого белка;

b - суммарный коэффициент разведения образца;

l - толщина слоя в лунке планшета; для 150 мкл $l=0.42$ см.

3. Определение температуры агрегации белка методом динамического светорассеяния.

Определение точки агрегации исследуемых белков (в концентрации 1 мг/мл) осуществляли на приборе Zetasizer Nano ZSP. Для этого 0.5 мл раствора помещали в кварцевую обеспыленную кювету, которую постепенно нагревали в установке при постоянном измерении интенсивности рассеянного света.

Аналитическая модель: Protein analysis.

Режим Temperature trend, mod: Protein aggregation point. От 50 до 83°C при шаге нагрева 1,5°C.

Выдерживание при температуре перед началом измерения 30 с.

Интенсивность рассеянного света детектировали при угле $\theta=173^\circ$.

В каждой точке среднее значение по 13 измерениям в 1 повторности.

Температурный тренд и точка агрегации были определены с использованием ПО прибора.

4. Определение коллоидной стабильности методом "ПЭГ-агрегация" Готовили раствор ПЭГ 6000 с массовой концентрацией 20-25% в исследуемом составе вспомогательных веществ. Итоговые растворы фильтровали через фильтр Durgore 0.45 мкм.

В 96-луночные планшеты для УФ-спектрофотометрии переносили расчетное количество образца, раствора вспомогательных веществ и 20-25% раствора ПЭГ 6000 так, чтобы в ряде лунок была концентрация ПЭГ6000 от 0 до 18%, а концентрация белка в каждой лунке составляла 1 мг/мл. Все полученные в лунках растворы хорошо перемешивали, пипетируя.

После этого оценивали степень мутности растворов визуально, а также измеряли оптическую плот-

ность растворов при длине волны 400 нм.

Осаждение белка в присутствии ПЭГ связано с эффектом замещения объема, то есть белок стерически вытесняется из регионов растворителя полимером (L. Li, A. Kantor, N. Warne. Application of a PEG precipitation method for solubility screening: A tool for developing high protein concentration formulations, Protein Sci. 2013 Aug; 22(8): 1118-1123). Это приводит к концентрированию белка до тех пор, пока не будет превышена его растворимость и не выпадет осадок. Чем менее стабилен образец, тем при меньшей концентрации ПЭГ 6000 он будет образовывать видимые агрегаты (опалесценцию).

5. Определение термической стабильности при термострессе при 50°C.

Исследуемые образцы разделяли на две аликвоты по 150 мкл и помещали в отдельные стеклянные виалы: по одной виале на каждый состав откладывали в холодильник на хранение при 5±3°C, остальные устанавливали в термостат и инкубировали при 50°C в течение указанного времени. При отборе контрольных точек или после окончания прогрева виалы убирала из термостата, выдерживали при комнатной температуре около 15 мин и передавали на анализ.

6. Определение коллоидной стабильности при шейкировании. Исследуемые образцы разделяли на две аликвоты по 150 мкл и помещали в стеклянные виалы по одной виале на каждый состав откладывали в холодильник на хранение при температуре 5±3°C, остальные устанавливали в термошейкер и шейкировали со скоростью 800 об./мин при температуре 5±3°C в течение указанного времени. При отборе контрольных точек или после окончания стресса виалы убирала из термошейкера и передавали на анализ.

7. Определение коллоидной стабильности при замораживании и оттаивании.

Исследуемые образцы разделяли на две аликвоты и помещали в полимерные пробирки: по одной пробирке на каждый состав откладывали в холодильник на хранение при 5±3°C, остальные устанавливали в морозильную камеру и хранили при температуре минус 16-20°C в течение указанного времени. После окончания стресса пробирки убирала из морозильной камеры, выдерживали при комнатной температуре до полного оттаивания содержимого, перемешивали растворы с помощью вортекса и передавали на анализ.

8. Ускорение хранения.

Исследуемые образцы в концентрации белка 20, 180 и 220 мг/мл разделяли на отдельные аликвоты (одна для входного контроля допускается передавать на анализ единожды для всех исследований при старте хранения) и помещали в отдельные стерильные стеклянные флаконы и шприцы: часть флаконов и шприцов на каждый состав откладывали в холодильник на хранение при 5±3°C (входной контроль), остальные устанавливали в термостат и инкубировали при 25°C в течение 6 месяцев, периодически отбирая контрольные точки согласно плану. При отборе контрольных точек и после завершения хранения флаконы и шприцы убирала из термостата и передавали на анализ.

9. Определение чистоты образцов методом эксклюзионной высокоэффективной жидкостной хроматографии (Э ВЭЖХ).

Колонка Tosoh TSK-GelG3000SWXL 7.8 mm ID×30 cm, cat. № 08541.

Температура колонки: 25.

Скорость потока подвижной фазы: 0.7 мл/мин.

Объем вкола: 10 мкл.

Концентрация образца: 5 мг/мл.

Длина волны детектора: 220 и 280 нм.

Продолжительность элюирования: 23 мин.

Подвижная фаза: Динатрия гидрофосфат б/в 7.1 мг/мл.

Натрия хлорид 17.54 мг/мл. рН подвижной фазы доводили до 7.0 ортофосфорной кислотой.

10. Определение профиля заряженных форм методом ионообменной высокоэффективной жидкостной хроматографии (ИО ВЭЖХ).

Колонка: TSKgel CM-STAT, 4,6 мм×100 мм, размер частиц 7 мкм (Tosoh Bioscience LLC, Япония, 21966).

Элюент А: раствор 10 мМ динатрия гидрофосфата безводного, рН 6,8.

Элюент В: раствор 10 мМ динатрия гидрофосфата безводного, 200 мМ NaCl, рН 6,8.

Скорость потока: 0,7 мл/мин.

Температура колонки: 35°C.

Температура автосэмплера: 5°C.

Детектор: УФ, 280 нм.

Референсная длина волны: 360 нм, ширина окна пропускания (bandwidth) 100 нм.

Объем пробы: 40 мкл.

Режим элюирования: элюент А 100→0→100%.

Элюент В 0→100→0%.

Время хроматографирования: 60 мин.

Исследуемый образец разводили до концентрации 1,0 мг/мл и проводили обработку карбоксипептидазой В (1% от объема образца) в течение 2 ч при температуре (37±1)°C.

11. Определение гомогенности методом вертикального электрофореза в полиакриламидном геле в редуцирующих и нередуцирующих условиях (ВЭФ ред. и неред.).

Готовили ПААГ в стеклянных пластинах в присутствии натрия додецилсульфата, состоящие из концентрирующего слоя - 4% ПААГ и разделяющего слоя: в редуцирующих условиях - 12.5% ПААГ, в нередуцирующих условиях - 8 % ПААГ.

Собирали и устанавливали электрофорезную камеру в соответствии с инструкцией по эксплуатации прибора для проведения вертикального электрофореза. Пробы готовили, разводя образцы очищенной водой до конечной концентрации 1 мг/мл. Отбирали объем, эквивалентный 40 мкг и смешивали подготовленные пробы исследуемого образца в соотношении 3:1 (об./об.) с буферным раствором для нанесения образцов 4-кратным, содержащим 2-меркаптоэтанол (редуцирующие условия) и не содержащим 2-меркаптоэтанол (нередуцирующие условия), перемешивали. Полученные растворы инкубировали при температуре $(99\pm 1)^\circ\text{C}$ в течение 3 мин (образцы, содержащие 2-меркаптоэтанол) и при температуре $(99\pm 1)^\circ\text{C}$ в течение 1 мин (образцы, не содержащие 2-меркаптоэтанол). Растворы охлаждали до комнатной температуры, перемешивали и наносили в лунки ПААГ под слой электродного буферного раствора.

Электрофорез проводили в режиме постоянного тока, используя систему водяного охлаждения. Задавали параметры работы источника питания: при прохождении фронта красителя через концентрирующий гель напряжение тока составляло 110 В. После вхождения фронта красителя в нижний разделяющий гель на 5-7 мм напряжение тока увеличивали до 180 В. Источник питания отключали, когда фронт красителя достиг нижней границы геля.

После окончания электрофореза гели отделяли от стекол и проводили фиксацию белков в фиксирующем растворе в течение 16 - 18 ч при комнатной температуре. Затем проводили окрашивание гелей (в растворе кислотном синем 83) и отмывку до получения четкой визуализации полос. Гели сканировали. Чистоту и примеси в испытуемых образцах оценивали с помощью программного обеспечения GelPro.

12. Определение относительной специфической активности. Специфическую активность определяли с использованием антипролиферативного теста на культуре клеток DS-1. Пробоподготовку проводили с использованием роботизированной станции TescanEvo 200, в качестве СКО (среды для количественного определения) использовали RPMI1640, содержащая 2 mM Gln, 10% FBS, 1 mM натрия пивувата, 50 мкг/мл гентамицина.

Исследуемый образец антитела разводили с использованием СКО до концентрации 5мг/мл и помещали в роботизированную станцию. С помощью TescanEvo 200 проводили подготовку трех независимых разведений стандартного и исследуемого образца в концентрациях 1000000, 250000, 100000, 25000, 5000, 2500, 1000, 250, 50, 5,0 нг/мл с использованием СКО. Переносили разведения и СКО в культуральные планшеты и вносили клеточную суспензию DS-1 в концентрации $(1,5\pm 0,1)\times 10^5$ клеток/мл и рабочий раствор ИЛ6 7,5 нг/мл к разведениям испытуемых и стандартных образцов. Культуральные планшеты помещали в CO_2 -инкубатор, инкубировали при температуре $(37\pm 1)^\circ\text{C}$ в увлажненном воздухе с содержанием углерода диоксида 5% в течение 70-72 ч.

По истечении срока инкубации в лунки культурального планшета вносили краситель Аламар синий и инкубировали планшеты при тех же условиях до развития градиентной окраски. Оценивали интенсивность флуоресценции при длине волны возбуждения/испускания 544/590 нм. С помощью ПО Magellan ver 7.2 проводили построение кривых зависимости интенсивности флуоресценции от концентрации белка. Относительную специфическую активность исследуемых образцов определяли как соотношение ED_{50} стандартного образца к ED_{50} испытуемого образца, выраженное в процентах.

13. Обработка результатов.

Абсолютное изменение показателей качества в ходе стрессов рассчитывали по формуле:

$$\Delta = (\text{значение после стресса} - \text{значение до стресса}).$$

Абсолютное изменение профиля заряженных форм рассчитывали по формуле:

$$\Delta = |\text{содержание кисл. фракций до стресса} - \text{содержание кисл. фракций после стресса}| + |\text{содержание щел. фракций до стресса} - \text{содержание щел. фракций после стресса}| + |\text{содержание доминир. фракции до стресса} - \text{содержание доминир. фракции после стресса}|$$

Примеры

Пример 1. Выбор буферной системы.

В настоящем исследовании в качестве основы фармацевтической композиции выбраны 2 типовых буферных системы, пригодных для парентерального введения: ацетатная и гистидиновая.

Для оценки пригодности буферных систем в отношении технологических характеристик фармацевтической композиции было проведено исследование влияния природы буферного раствора на коллоидную стабильность белка при его концентрировании. В качестве отклика было проведено измерение времени фильтрации образца через стерилизующий фильтр 0,22 мкм. Исследуемые фармацевтические композиции представлены в табл. 1.

Таблица 1

Исследуемые составы	
5 Acet buf	Левелимаб от 100 до 180 мг/мл
	Натрия ацетата тригидрат 0,436 мг/мл
	Кислота уксусная до pH 5.0
	Вода для инъекций до 1 мл
5 His buf	Левелимаб от 100 до 180 мг/мл
	Гистидин 0,23 мг/мл
	Гистидина гидрохлорида моногидрат 0,74 мг
	Вода для инъекций до 1 мл

Исследование времени фильтрации.

Образцы концентрировали согласно методике 1. При достижении концентрации 100 мг/мл, 130 мг/мл и 180 мг/мл проводили измерение времени стерилизующей фильтрации фармацевтической композиции. Результаты исследования времени проведения стерилизующей фильтрации представлены в табл. 2.

Таблица 2

Время стерилизующей фильтрации					
Обозначение состава	Скорость вращения ротора центрифуги, об/мин	Время фильтрации (100 мг/мл), мин	Время фильтрации (130 мг/мл), мин	Время фильтрации (180 мг/мл), мин	Финальный объем раствора белка, мл
5 Acet buf	7500 → 10000	10	20	35	0,245
5 His buf	7500 → 10000	10	30	60	0,245

Использование ацетатной буферной системы позволяет снизить время фильтрации фармацевтической композиции, содержащей 180 мг/мл белка приблизительно в 1.7 раз по сравнению с гистидиновой буферной системой, что свидетельствует о ее лучшей растворимости и коллоидной стабильности.

Пример 2. Первичный выбор осмотического агента.

Исследуемые составы.

В качестве осмотических агентов исследовали пригодные для парентерального введения вспомогательные вещества. Исследуемые составы представлены в табл. 3.

Исследуемые составы

5 Acet. Buf. + Tre	Левелимаб	5 мг/мл
	Натрия ацетата тригидрат	0,436 мг
	Трегалозы дигидрат	100 мг
	Уксусная кислота ледяная	до pH 5
	Вода для инъекций	до 1 мл
5 Acet. Buf. + Mann	Левелимаб	5 мг/мл
	Натрия ацетата тригидрат	0,436 мг
	Маннитол	45 мг
	Уксусная кислота ледяная	до pH 5
	Вода для инъекций	до 1 мл
5 Acet. Buf. + 300Gly	Левелимаб	5 мг/мл
	Натрия ацетат тригидрат	0,436 мг
	Глицерин	23 мг
	Уксусная кислота ледяная	до pH 5
	Вода для инъекций	до 1 мл
5 Acet. Buf. + 200Arg	Левелимаб	5 мг/мл
	Натрия ацетат тригидрат	0,436 мг
	Аргинин гидрохлорид	42,1 мг
	Уксусная кислота ледяная	до pH 5
	Вода для инъекций	до 1 мл
5 Acet. Buf. + 100Arg + Mann	Левелимаб	5 мг/мл
	Натрия ацетата тригидрат	0,436 мг
	Аргинина гидрохлорид	21,1 мг
	Маннитол	45 мг
	Уксусная кислота ледяная	до pH 5
Вода для инъекций	до 1 мл	

Определение коллоидной стабильности методом "ПЭГ-агрегации".

Тест "ПЭГ-агрегация" позволяет смоделировать прямое концентрирование левелимаба за счет его вытеснения инертным полимером ПЭГ 6000, а также сделать сравнительную оценку теоретической растворимости антитела в различных составах. Исследование выполнено согласно методике 4. Данные средней оптической плотности растворов представлены в табл. 4. Результаты также представлены на фиг. 1.

Таблица 4

Средняя оптическая плотность растворов после приготовления

% ПЭГ	5mM Acet.buf+ MAN	5mM Acet.buf+ TRE	5mM Acet.buf+ 300Gly	5mM Acet.buf+ 200ARG	5mM Acet.buf+MAN+ 100ARG
0	0.0654	0.062	0.0648	0.0616	0.0597
6	0.0507	0.0503	0.0603	0.055	0.0523
8	0.0513	0.049	0.0634	0.0599	0.0563
10	0.0506	0.0502	0.0671	0.0634	0.0571
12	0.0661	0.0623	0.0782	0.0723	0.0655
14	0.0726	0.0612	0.085	0.7891	0.0959
16	0.0828	0.0644	0.086	1.1381	0.8313
18	0.0693	0.0706	0.089	1.4159	1.2695
Через 24 ч инкубирования					
6	0.0772	0.0691	0.0699	0.0694	0.0701
8	0.079	0.0579	0.0752	0.0759	0.0752
10	0.0733	0.0599	0.0825	0.0814	0.0778
12	0.1594	0.076	0.0966	0.547	0.5412
14	0.429	0.0828	0.1101	0.8691	0.8324
16	1.081	0.1197	0.117	0.8759	0.8549
18	1.5645	0.9225	0.4592	1.2331	1.1657
Серым цветом выделены ячейки, значения оптической плотности в которых свидетельствуют о высокой мутности образца					

Определение термической стабильности.

Оценка термической стабильности выполнена с использованием методик 3 и 5. До и после термостресса определено суммарное содержание примесей методом Э ВЭЖХ с использованием методики 9.

Результаты представлены в табл. 5 и на фиг. 2, 3, 4 и 5.

Таблица 5

Результаты определения термической стабильности

Обозначение состава	Содержание примесей, %	Прирост содержания примесей после термостресса 96 ч, %	Температура агрегации, °С
Acet	0.27	4.69	–
5 Acet. Buf. + Mann	0.22	4.61	75.5
5 Acet. Buf. + Tre	0.21	5.39	–
5 Acet. Buf. + 300Gly	0.21	4.27	81.5
5 Acet. Buf. + 200Arg	0.23	5.23	74
5 Acet. Buf. + 100Arg + Mann	0.23	3.75	74

Фармацевтические композиции на основе ацетатной буферной системы, содержащие в качестве осмотических агентов маннитол, трегалозы дигидрат и глицин, продемонстрировали лучшую коллоидную стабильность при ПЭГ-агрегации.

Высокую термическую стабильность продемонстрировали составы на основе ацетатного буферного раствора, содержащие в качестве осмотических агентов глицин и маннитол.

Пример 3. Скрининг осмотических агентов и стабилизаторов.

Для проведения скрининга осмотических агентов и стабилизаторов были использованы вспомогательные вещества, пригодные для парентерального введения. Исследуемые составы представлены в табл.

6. Фармацевтические композиции, содержащие левелимаб с концентрацией 10 мг/мл в исследуемых составах, были получены в соответствии с методикой 2.

Исследуемые составы

Ac+SORB	Левилимаб Натрия ацетата тригидрат Уксусная кислота ледяная Сорбитол	10 мг/мл 1,742 мг/мл до pH 5.0 45 мг/мл
Ac+SORB+PLX188	Левилимаб Натрия ацетата тригидрат Уксусная кислота ледяная Сорбитол Полоксамер 188	10 мг/мл 1,742 мг/мл до pH 5.0 45 мг/мл 1 мг/мл
Ac+SORB+Ser	Левилимаб Натрия ацетата тригидрат Уксусная кислота ледяная Сорбитол L-серин	10 мг/мл 1,742 мг/мл до pH 5.0 45 мг/мл 20 мМ
Ac+SORB+Gly	Левилимаб Натрия ацетата тригидрат Уксусная кислота ледяная Сорбитол Глицин	10 мг/мл 1,742 мг/мл до pH 5.0 45 мг/мл 100 мМ
Ac+SORB+Arg+Glu	Левилимаб Натрия ацетата тригидрат Уксусная кислота ледяная Сорбитол L-аргинина гидрохлорида моногидрат Натрия глутамата моногидрат	10 мг/мл 1,742 мг/мл до pH 5.0 45 мг/мл 50 мМ 50 мМ
Ac+SORB+Met	Левилимаб Натрия ацетата тригидрат Уксусная кислота ледяная Сорбитол L-метионин	10 мг/мл 1,742 мг/мл до pH 5.0 45 мг/мл 1 мМ
Ac+SORB+20Met	Левилимаб Натрия ацетата тригидрат Уксусная кислота ледяная Сорбитол L-метионин	10 мг/мл 1,742 мг/мл до pH 5.0 45 мг/мл 100 мМ
Ac+MANN	Левилимаб Натрия ацетата тригидрат Уксусная кислота ледяная Маннитол	10 мг/мл 1,742 мг/мл до pH 5.0 45 мг/мл
Ac+MANN+PLX188	Левилимаб Натрия ацетата тригидрат Уксусная кислота ледяная Маннитол Полоксамер 188	10 мг/мл 1,742 мг/мл до pH 5.0 45 мг/мл 1 мг/мл

Ac+MANN+10SBECD	Левилимаб Натрия ацетата тригидрат Уксусная кислота ледяная Маннитол Сульфобутиловый эфир циклодекстрина	10 мг/мл 1,742 мг/мл до pH 5.0 45 мг/мл 10 мг/мл
Ac+MANN+30SBECD	Левилимаб Натрия ацетата тригидрат Уксусная кислота ледяная Маннитол Сульфобутиловый эфир циклодекстрина	10 мг/мл 1,742 мг/мл до pH 5.0 45 мг/мл 30 мг/мл
Ac+MANN+10HPBCD	Левилимаб Натрия ацетата тригидрат Уксусная кислота ледяная Маннитол Гидроксипропил-β-циклодекстрина	10 мг/мл 1,742 мг/мл до pH 5.0 45 мг/мл 10 мг/мл
Ac+MANN+30HPBCD	Левилимаб Натрия ацетата тригидрат Уксусная кислота ледяная Маннитол Гидроксипропил-β-циклодекстрин	10 мг/мл 1,742 мг/мл до pH 5.0 45 мг/мл 30 мг/мл
Ac+MANN+Lys	Левилимаб Натрия ацетата тригидрат Уксусная кислота ледяная Маннитол L-лизин	10 мг/мл 1,742 мг/мл до pH 5.0 45 мг/мл 20 мМ
Ac+MANN+Ser	Левилимаб Натрия ацетата тригидрат Уксусная кислота ледяная Маннитол L-серин	10 мг/мл 1,742 мг/мл до pH 5.0 45 мг/мл 20 мМ
Ac+MANN+20Gly	Левилимаб Натрия ацетата тригидрат Уксусная кислота ледяная Маннитол L-глицин	10 мг/мл 1,742 мг/мл до pH 5.0 45 мг/мл 20 мМ
Ac+MANN+100Gly	Левилимаб Натрия ацетата тригидрат Уксусная кислота ледяная Маннитол L-глицин	10 мг/мл 1,742 мг/мл до pH 5.0 45 мг/мл 100 мМ
Ac+MANN+Arg+Glu	Левилимаб Натрия ацетата тригидрат Уксусная кислота ледяная Маннитол L-аргинина гидрохлорида моногидрат Натрия глутамата моногидрат	10 мг/мл 1,742 мг/мл до pH 5.0 45 мг/мл 50 мМ 50 мМ
Ac+MANN+Arg+Glu+ PLX188	Левилимаб Натрия ацетата тригидрат Уксусная кислота ледяная Маннитол L-аргинина гидрохлорида моногидрат Натрия глутамата моногидрат Полоксамер 188	10 мг/мл 1,742 мг/мл до pH 5.0 45 мг/мл 50 мМ 50 мМ 1 мг/мл

Ac+MANN+Arg+Glu+ SBECD	Левилимаб Натрия ацетата тригидрат Уксусная кислота ледяная Маннитол L-аргинина гидрохлорида моногидрат Натрия глутамата моногидрат Сульфобутиловый эфир циклодекстрина	10 мг/мл 1,742 мг/мл до pH 5.0 45 мг/мл 50 мМ 50 мМ 30 мг/мл
Ac+MANN+Arg+Glu+ HPBCD	Левилимаб Натрия ацетата тригидрат Уксусная кислота ледяная Маннитол L-аргинина гидрохлорида моногидрат Натрия глутамата моногидрат Гидроксипропил-β-циклодекстрин	10 мг/мл 1,742 мг/мл до pH 5.0 45 мг/мл 50 мМ 50 мМ 30 мг/мл
Ac+MANN+Met	Левилимаб Натрия ацетата тригидрат Уксусная кислота ледяная Маннитол L-метионин	10 мг/мл 1,742 мг/мл до pH 5.0 45 мг/мл 100 мМ
Ac+PRO	Левилимаб Натрия ацетата тригидрат Уксусная кислота ледяная L-пролин	10 мг/мл 1,742 мг/мл до pH 5.0 225 мМ
Ac+Arg+Glu	Левилимаб Натрия ацетата тригидрат Уксусная кислота ледяная L-аргинина гидрохлорида моногидрат Натрия глутамата моногидрат	10 мг/мл 1,742 мг/мл до pH 5.0 100 мМ 100 мМ
Ac+Arg+Glu+PLX188	Левилимаб Натрия ацетата тригидрат Уксусная кислота ледяная L-аргинина гидрохлорида моногидрат Натрия глутамата моногидрат Поллоксамер 188	10 мг/мл 1,742 мг/мл до pH 5.0 100 мМ 100 мМ 1 мг/мл
Ac+Arg+Glu+SBECD	Левилимаб Натрия ацетата тригидрат Уксусная кислота ледяная L-аргинина гидрохлорида моногидрат Натрия глутамата моногидрат Сульфобутиловый эфир циклодекстрина	10 мг/мл 1,742 мг/мл до pH 5.0 100 мМ 100 мМ 30 мг/мл
Ac+Arg+Glu+HPBCD	Левилимаб Натрия ацетата тригидрат Уксусная кислота ледяная L-аргинина гидрохлорида моногидрат Натрия глутамата моногидрат Гидроксипропил-β-циклодекстрин	10 мг/мл 1,742 мг/мл до pH 5.0 100 мМ 100 мМ 30 мг/мл

Определение термической стабильности.

Исследование термической стабильности проведено в соответствии с методикой 5 в течение 96 ч. Анализ проводили согласно методикам 9-10. Результаты представлены в табл. 7. Результаты анализировали с использованием инструмента "heat-mapping" в ПО "Microsoft Excel". Лучшие результаты имеют более светлый оттенок окраски.

Таблица 7

Результаты исследования термической стабильности

Обозначение состава	Агрегаты, %		Мономер, %		Щел.	Осн.	Кисл.	Щел.	Осн.	Кисл.	Абсолютное изменение фракций
	Содержание агрегатов, %	Прирост агрегатов, %	Содержание мономера, %	Прирост мономера, %							
Ac+SORB	1.01	-0.19	97.85	-0.76	13.52	54.45	32.03	3.95	-12.25	8.3	24.51
Ac+SORB+PLX188	0.98	-0.12	97.94	-0.66	9.05	58.84	32.11	1.8	-8.2	6.39	16.39
Ac+SORB+Ser	0.96	-0.25	97.88	-0.68	8.94	59.73	31.33	7.8	-14.63	6.83	29.25
Ac+SORB+Gly	0.98	-0.18	97.86	-0.82	12.96	56.97	30.07	-0.37	-7.78	8.16	16.32
Ac+SORB+ArgGlu	1.2	-0.33	97.46	-0.6	12.03	57.7	30.27	1.17	-9.4	8.22	18.79
Ac+SORB+Met	0.95	-0.04	97.86	-0.79	—	—	—	—	—	—	—
Ac+SORB+20Met	0.95	-0.15	97.97	-0.73	—	—	—	—	—	—	—
Ac+MANN	0.93	-0.02	97.65	-0.67	—	—	—	—	—	—	—
Ac+MANN+PLX188	1.03	-0.16	97.71	-0.69	—	—	—	—	—	—	—
Ac+MANN+10SBECD	1.02	29.68	97.72	31.69	—	—	—	—	—	—	—
Ac+MANN+30SBECD	1.03	—	97.65	—	—	—	—	—	—	—	—
Ac+MANN+10HPBCD	0.95	-0.19	97.87	-0.58	—	—	—	—	—	—	—
Ac+MANN+30HPBCD	0.99	-0.23	97.64	-0.43	5.67	62.44	31.89	2.03	-11.44	9.41	22.87
Ac+MANN+Lys	1.38	-0.5	97.31	-0.55	6.01	69.95	24.04	-0.07	-13.08	13.1	26.24
Ac+MANN+Ser	0.95	-0.12	97.89	-0.69	—	—	—	—	—	—	—
Ac+MANN+20Gly	0.98	-0.21	97.82	-0.68	—	—	—	—	—	—	—
Ac+MANN+100Gly	0.95	-0.24	97.74	-0.35	6.48	68.68	24.84	-0.62	-15.76	16.38	—
Ac+MANN+ArgGlu	0.97	-0.09	97.82	-0.88	6.1	69.25	24.65	-0.24	-13.03	13.26	26.52
Ac+MANN+ArgGlu+ PLX188	0.96	-0.04	97.72	-0.98	—	—	—	—	—	—	—
Ac+MANN+ArgGlu+ SBECD	0.96	0.04	97.92	-1.32	6.49	68.47	25.04	1.19	-11.44	10.25	22.88
Ac+MANN+ArgGlu+ HPBCD	0.98	-0.12	97.73	-0.89	5.92	69.23	24.85	1.20	-11.75	10.55	23.50
Ac+MANN+Met	0.94	-0.11	97.85	-0.76	—	—	—	—	—	—	—
Ac+PRO	0.92	1.05	96.91	-0.68	5.33	56.91	37.76	-0.36	-11	11.36	22.72
Ac+ArgGlu	1.12	-0.09	97.67	-0.87	—	—	—	—	—	—	—
Ac+ArgGlu+PLX188	1	1.48	97.86	-2.56	—	—	—	—	—	—	—
Ac+ArgGlu+SBECD	0.95	0.45	97.79	-1.76	—	—	—	—	—	—	—
Ac+ArgGlu+HPBCD	1.68	-0.5	96.9	-0.43	5.83	66.03	28.14	1.11	-11.15	10.04	22.29

Определение коллоидной стабильности при шейкировании.

Исследование коллоидной стабильности проведено согласно методике 6 в течение 96 ч. Результаты исследования представлены в табл. 8. Результаты анализировали с использованием инструмента "heat-mapping" в ПО "Microsoft Excel". Лучшие результаты имеют более светлый оттенок окраски.

Таблица 8

Результаты исследования коллоидной стабильности при шейкировании

Обозначение состава	Агрегаты, %		Мономер, %		Щел.	Осн.	Кисл.	Щел.	Осн.	Кисл.	Абсолютное изменение фракций
	Содержание агрегатов, %	Прирост агрегатов, %	Содержание мономера, %	Прирост мономера, %							
Ac+SORB	1.01	—	97.85	—	13.52	54.45	32.03	—	—	—	—
Ac+SORB+PLX188	0.98	—	97.94	—	9.05	58.84	32.11	—	—	—	—
Ac+SORB+Ser	0.96	—	97.88	—	8.94	59.73	31.33	—	—	—	—
Ac+SORB+Gly	0.98	—	97.86	—	12.96	56.97	30.07	—	—	—	—
Ac+SORB+ArgGlu	1.2	—	97.46	—	12.03	57.7	30.27	—	—	—	—
Ac+SORB+Met	0.95	—	97.86	—	—	—	—	—	—	—	—
Ac+SORB+20Met	0.95	—	97.97	—	—	—	—	—	—	—	—
Ac+MANN	0.93	—	97.65	—	—	—	—	—	—	—	—
Ac+MANN+PLX188	1.03	—	97.71	—	—	—	—	—	—	—	—
Ac+MANN+10SBECD	1.02	—	97.72	—	—	—	—	—	—	—	—
Ac+MANN+30SBECD	1.03	—	97.65	—	—	—	—	—	—	—	—
Ac+MANN+10HPBCD	0.95	—	97.87	—	—	—	—	—	—	—	—
Ac+MANN+30HPBCD	0.99	—	97.64	—	5.67	62.44	31.89	—	—	—	—
Ac+MANN+Lys	1.38	—	97.31	—	6.01	69.95	24.04	—	—	—	—
Ac+MANN+Ser	0.95	-0.02	97.89	0.02	—	—	—	—	—	—	—
Ac+MANN+20Gly	0.98	-0.04	97.82	0.05	—	—	—	—	—	—	—
Ac+MANN+100Gly	0.95	0.01	97.74	0.15	6.48	68.68	24.84	-1.47	-1.17	2.65	—
Ac+MANN+ArgGlu	0.97	-0.03	97.82	0.03	6.1	69.25	24.65	—	—	—	—
Ac+MANN+ArgGlu+ PLX188	0.96	0	97.72	-0.05	—	—	—	—	—	—	—
Ac+MANN+ArgGlu+ SBECD	0.96	-0.02	97.92	-0.04	6.49	68.47	25.04	—	—	—	—
Ac+MANN+ArgGlu+ HPBCD	0.98	-0.08	97.73	0.14	5.92	69.23	24.85	-0.85	-2.14	2.99	—
Ac+MANN+Met	0.94	—	97.85	—	—	—	—	—	—	—	—
Ac+PRO	0.92	—	96.91	—	5.33	56.91	37.76	—	—	—	—
Ac+ArgGlu	1.12	-0.16	97.67	0.28	—	—	—	—	—	—	—
Ac+ArgGlu+PLX188	1	-0.03	97.86	0.05	—	—	—	—	—	—	—
Ac+ArgGlu+SBECD	0.95	0	97.79	0.07	—	—	—	—	—	—	—
Ac+ArgGlu+HPBCD	1.68	-0.72	96.9	0.77	5.83	66.03	28.14	0.11	-0.11	-0.01	0.23

Определение коллоидной стабильности при замораживании и оттаивании.

Исследование коллоидной стабильности проведено согласно методике 7 в течение 96 ч. Результаты исследования представлены в табл. 9. Результаты анализировали с использованием инструмента "heat-mapping" в ПО "Microsoft Excel". Лучшие результаты имеют более светлый оттенок окраски.

Результаты исследования стабильности левилимаба в различных составах при замораживании-размораживании

Обозначение состава	Агрегаты, %		Мономер, %		Щел.	Осн.	Кисл.	Щел.	Осн.	Кисл.	Абсолютное изменение фракций
	Содержание агрегатов, %	Прирост агрегатов, %	Содержание мономера, %	Прирост мономера, %	Содержание фракций, %			Прирост фракций, %			
Ac+SORB	1.01	0.01	97.85	-0.07	13.52	54.45	32.03	-	-	-	-
Ac+SORB+PLX188	0.98	0.06	97.94	-0.42	9.05	58.84	32.11	-	-	-	-
Ac+SORB+Ser	0.96	0.07	97.88	-0.05	8.94	59.73	31.33	-	-	-	-
Ac+SORB+Gly	0.98	0.01	97.86	-0.04	12.96	56.97	30.07	-1.54	0.53	1.01	3.07
Ac+SORB+ArgGlu	1.2	-0.15	97.46	0.16	12.03	57.70	30.27	-0.8	4.85	-4.06	3.79
Ac+SORB+Met	0.95	-	97.86	-	-	-	-	-	-	-	-
Ac+SORB+20Met	0.95	-	97.97	-	-	-	-	-	-	-	-
Ac+MANN	0.93	0.42	97.65	-0.26	-	-	-	-	-	-	-
Ac+MANN+PLX188	1.03	0.45	97.71	-0.45	-	-	-	-	-	-	-
Ac+MANN+10SBECD	1.02	0.5	97.72	-0.45	-	-	-	-	-	-	-
Ac+MANN+30SBECD	1.03	0.07	97.65	0.2	-	-	-	-	-	-	-
Ac+MANN+10HPBCD	0.95	0.45	97.87	-0.45	-	-	-	-	-	-	-
Ac+MANN+30HPBCD	0.99	0.15	97.64	0.02	5.67	62.44	31.89	-0.22	3.77	-3.55	7.53
Ac+MANN+Lys	1.38	-0.3	97.31	0.3	6.01	69.95	24.04	0.28	-3.92	3.64	7.84
Ac+MANN+Ser	0.95	-	97.89	-	-	-	-	-	-	-	-
Ac+MANN+20Gly	0.98	-	97.82	-	-	-	-	-	-	-	-
Ac+MANN+100Gly	0.95	-	97.74	-	6.48	68.68	24.84	-	-	-	-
Ac+MANN+ArgGlu	0.97	-	97.82	-	6.1	69.25	24.65	-	-	-	-
Ac+MANN+ArgGlu+ PLX188	0.96	-	97.72	-	-	-	-	-	-	-	-
Ac+MANN+ArgGlu+ SBECD	0.96	-	97.92	-	6.49	68.47	25.04	-0.68	1.94	-1.26	3.88
Ac+MANN+ArgGlu+ HPBCD	0.98	-	97.73	-	5.92	69.23	24.85	-	-	-	-
Ac+MANN+Met	0.94	-	97.85	-	-	-	-	-	-	-	-
Ac+PRO	0.92	0.05	96.91	0.83	5.33	56.91	37.76	-0.06	-3.81	3.87	7.75
Ac+ArgGlu	1.12	-	97.67	-	-	-	-	-	-	-	-
Ac+ArgGlu+PLX188	1	-	97.86	-	-	-	-	-	-	-	-
Ac+ArgGlu+SBECD	0.95	-	97.79	-	-	-	-	-	-	-	-
Ac+ArgGlu+HPBCD	1.68	-	96.9	-	5.83	66.03	28.14	0.38	2.41	-2.8	5.59

Среди исследуемых образцов можно выделить по стабильности следующий состав:

Левилимаб	10 мг/мл
Натрия ацетата тригидрат	1,742 мг/мл
Уксусная кислота ледяная	до pH 5.0
Сорбитол	45 мг/мл
Глицин	100 мМ

Данная фармацевтическая композиция продемонстрировала достаточные стабилизирующие свойства среди всех исследуемых образцов: низкий уровень абсолютного изменения кислотно-щелочного профиля при термострессе, а также низкое снижение содержания мономера при термострессе и замораживании.

Состав, содержащий маннитол в качестве осмотического агента и глицин в качестве стабилизатора, продемонстрировал минимальное снижение мономера в ходе термостресса.

В ходе исследования не было выявлено значимых преимуществ использования солюбилизаторов на термическую или коллоидную стабильность белка по сравнению с использованием в качестве стабилизатора аминокислот.

Пример 4. Определение стабильности при ускоренном хранении.

Исследования стабильности были проведены для составов: два состава, содержащие глицин в качестве стабилизатора, сорбитол и маннитол в качестве осмотических агентов, а также состав на основе аргинин-ацетатной буферной системы. Составы, содержащие аргинин, продемонстрировали достаточно низкий уровень изменений кислотно-щелочного профиля при термострессе и шейкировании, кроме того, согласно литературным данным, использование аргинина (Hong, T., et al., Current Protein and Peptide Science, 2018,19, 748-758) значительно снижает вязкость фармацевтической композиции. Исследуемые составы представлены в табл. 10.

Исследуемые составы

Ac+MANN+Gly 20 мг/мл	Левилимаб Натрия ацетата тригидрат Уксусная кислота ледяная Маннитол Глицин	20 мг/мл 0,436 мг/мл до pH 5.0 23 мг/мл 7,5 мг/мл
Ac+SORB+Gly 20 мг/мл	Левилимаб Натрия ацетата тригидрат Уксусная кислота ледяная Сорбитол Глицин	20 мг/мл 0,436 мг/мл до pH 5.0 23 мг/мл 7,5 мг/мл
Ac+Arg 20 мг/мл	Левилимаб Натрия ацетата тригидрат Уксусная кислота ледяная Аргинина гидрохлорид	20 мг/мл 1,744 мг/мл до pH 5.0 100 мМ
Ac+MANN+Gly 180 мг/мл	Левилимаб Натрия ацетата тригидрат Уксусная кислота ледяная Маннитол Глицин	180 мг/мл 0,436 мг/мл до pH 5.0 23 мг/мл 7,5 мг/мл
Ac+SORB+Gly 180 мг/мл	Левилимаб Натрия ацетата тригидрат Уксусная кислота ледяная Сорбитол Глицин	180 мг/мл 0,436 мг/мл до pH 5.0 23 мг/мл 7,5 мг/мл
Ac+Arg 180 мг/мл	Левилимаб Натрия ацетата тригидрат Уксусная кислота ледяная Аргинина гидрохлорид	180 мг/мл 1,744 мг/мл до pH 5.0 100 мМ
Ac+MANN+Gly 220 мг/мл	Левилимаб Натрия ацетата тригидрат Уксусная кислота ледяная Маннитол Глицин	220 мг/мл 0,436 мг/мл до pH 5.0 23 мг/мл 7,5 мг/мл
Ac+SORB+Gly 220 мг/мл	Левилимаб Натрия ацетата тригидрат Уксусная кислота ледяная Сорбитол Глицин	220 мг/мл 0,436 мг/мл до pH 5.0 23 мг/мл 7,5 мг/мл
Ac+Arg 220 мг/мл	Левилимаб Натрия ацетата тригидрат Уксусная кислота ледяная Аргинина гидрохлорид	220 мг/мл 1,744 мг/мл до pH 5.0 100 мМ

Ускоренное хранение.

Фармацевтические композиции, содержащие белок в концентрации 20, 180 и 220 мг/мл приготовлены методом диафильтрации согласно методике 1 и заложены на ускоренное хранение при температуре 25±2°C в соответствии с методикой 8. Результаты исследования представлены в табл. 11 и на фиг. 6, 7 и 8.

Результаты исследования стабильности

Обозначение состава	Показатель	Входной контроль	3 месяца	5 месяцев	6 месяцев	Абс. изменение
Ac+MANN+Gly 220 мг/мл	pH	5,91	5,90	NA	5,84	NA
	Осмоляльность, мОсм/кг	362	360	NA	351	NA
	Содержание агрегатов, %	0,97	2,18	2,63	3,01	2,04
	Содержание мономера (Э ВЭЖХ), %	97,98	95,82	94,73	93,51	-4,47
	Кислые фракции, %	22,50	32,81	44,18	47,76	25,26
	Основные фракции, %	66,27	59,97	46,54	38,23	-28,04
	Щелочные фракции, %	11,23	7,22	9,28	14,01	2,78
	Суммарное изменение кислотно-щелочного профиля	NA	20,26	43,36	56,08	56,08

Ac+SORB+Gly 220 мг/мл	pH	5,52	5,49	NA	5,45	NA
	Осмоляльность, мОсм/кг	375	361	NA	363	NA
	Содержание агрегатов, %	0,91	1,80	2,19	2,64	1,73
	Содержание мономера (Э ВЭЖХ), %	98,03	96,13	95,15	94,07	-4,04
	Кислые фракции, %	22,83	30,47	39,70	43,55	20,72
	Основные фракции, %	64,12	58,62	49,03	41,12	-23,00
	Щелочные фракции, %	13,05	10,91	11,27	15,33	2,28
	Суммарное изменение кислотно-щелочного профиля	NA	15,28	33,74	46,00	46,00
Ac+Arg 220 мг/мл	pH	5,21	5,24	NA	5,32	NA
	Осмоляльность, мОсм/кг	320	312	NA	301	NA
	Содержание агрегатов, %	0,94	1,45	1,96	2,11	1,15
	Содержание мономера (Э ВЭЖХ), %	98,06	96,41	95,22	94,03	-4,03
	Кислые фракции, %	22,15	24,36	30,33	37,36	15,21
	Основные фракции, %	63,22	61,77	52,43	43,92	-19,30
	Щелочные фракции, %	14,63	13,87	17,24	18,72	4,09
	Суммарное изменение кислотно-щелочного профиля	NA	4,42	21,58	38,60	38,60
Ac+MANN+Gly 180 мг/мл	pH	5,85	5,94	NA	5,79	NA
	Вязкость, Па·с	0,011	NA	NA	NA	NA
	Осмоляльность, мОсм/кг	346	350	NA	332	NA
	Содержание агрегатов, %	0,90	2,08	2,45	2,83	1,93
	Содержание мономера (Э ВЭЖХ), %	98,13	95,92	94,88	93,82	-4,31
	Кислые фракции, %	22,99	33,53	44,12	46,58	23,59
	Основные фракции, %	66,46	60,02	47,74	39,87	-26,61
	Щелочные фракции, %	10,55	6,45	8,14	13,55	3,00
	Суммарное изменение кислотно-щелочного профиля	NA	23,08	42,26	53,19	53,19
	Относительная специфическая активность	94	100	88	91	NA
Ac+SORB+Gly 180 мг/мл	pH	5,43	5,43	NA	5,36	NA
	Вязкость, Па·с	0,012	NA	NA	NA	NA
	Осмоляльность, мОсм/кг	375	358	NA	367	NA
	Содержание агрегатов, %	0,85	1,66	2,14	2,53	1,68
	Содержание мономера (Э ВЭЖХ), %	98,13	96,42	95,31	94,43	-3,70
	Кислые фракции, %	23,82	32,84	41,63	44,38	20,55
	Основные фракции, %	63,22	58,69	48,99	41,29	-21,93
	Щелочные фракции, %	12,96	8,47	9,38	14,33	1,37

	Суммарное изменение кислотно-щелочного профиля	NA	18,04	35,62	43,85	43,85
	Относительная специфическая активность	92	103	88	100	NA
Ac+Arg 180 мг/мл	pH	5,05	5,11	NA	5,03	NA
	Вязкость, Па·с	0,008	NA	NA	NA	NA
	Осмоляльность, мОсм/кг	314	299	NA	291	NA
	Содержание агрегатов, %	0,85	1,42	1,74	1,95	1,10
	Содержание мономера (Э ВЭЖХ), %	98,17	96,47	95,30	94,45	-3,93
	Кислые фракции, %	23,03	27,85	36,35	36,94	13,91
	Основные фракции, %	62,68	60,68	51,28	43,85	-18,83
	Щелочные фракции, %	14,29	11,47	12,37	19,21	4,92
	Суммарное изменение кислотно-щелочного профиля	NA	9,64	26,64	37,66	37,66
	Относительная специфическая активность	97	94	85	115	NA
Ac+MANN+Gly 20 мг/мл	pH	5,27	5,30	NA	5,44	NA
	Осмоляльность, мОсм/кг	260	258	NA	258	NA
	Содержание агрегатов, %	1,22	0,86	NA	0,89	-0,33
	Содержание мономера (Э ВЭЖХ), %	97,78	96,74	NA	95,44	-2,34
	Кислые фракции, %	28,33	33,99	NA	44,39	16,06
	Основные фракции, %	60,25	48,59	NA	45,17	-15,08
	Щелочные фракции, %	11,42	17,42	NA	10,44	-0,98
	Суммарное изменение кислотно-щелочного профиля	NA	23,32	NA	32,12	32,12
Ac+SORB+Gly 20 мг/мл	pH	5,09	NA	NA	5,46	NA
	Осмоляльность, мОсм/кг	278	NA	NA	310	NA
	Содержание агрегатов, %	1,19	1,22	NA	0,92	-0,27
	Содержание мономера (Э ВЭЖХ), %	97,07	96,19	NA	96,45	-0,62
	Кислые фракции, %	24,91	34,89	NA	40,01	15,09
	Основные фракции, %	65,00	53,86	NA	44,97	-20,03
	Щелочные фракции, %	10,09	11,25	NA	15,02	4,93
	Суммарное изменение кислотно-щелочного профиля	NA	22,28	NA	40,07	40,07
Ac+Arg 20 мг/мл	pH	4,93	NA	NA	4,99	NA
	Осмоляльность, мОсм/кг	221	NA	NA	217	NA
	Содержание агрегатов, %	1,21	1,39	NA	1,14	-0,07
	Содержание мономера (Э ВЭЖХ), %	98,54	95,60	NA	95,71	-2,83
	Кислые фракции, %	24,69	31,23	NA	34,64	9,95
	Основные фракции, %	63,03	55,86	NA	46,37	-16,66
	Щелочные фракции, %	12,28	12,91	NA	18,99	6,71
	Суммарное изменение кислотно-щелочного профиля	NA	14,34	NA	33,32	33,32

Все фармацевтические композиции продемонстрировали приемлемый уровень изменений в ходе ускоренного хранения.

Фармацевтическая композиция, содержащая ацетат-аргининовую буферную систему, продемонстрировала приемлемый уровень агрегатообразования, а также низкое изменение кислотно-щелочного

профиля при ускоренном хранении как при концентрации моноклонального антитела против рецептора IL-6 20 мг/мл, так и при повышенной концентрации до 180-220 мг/мл.

Фармацевтическая композиция, содержащая в составе аргинин, продемонстрировала сниженное значение вязкости.

Фармацевтическая композиция, содержащая в качестве осмотического агента сорбитол, продемонстрировала низкий уровень снижения содержания мономера при ускоренном хранении как при концентрации моноклонального антитела против рецептора IL-6 20 мг/мл, так и при повышенной концентрации 180-220 мг/мл.

Были проведены примеры исследований с использованием водных фармацевтических композиций левелимаба для лечения IL-6-ассоциированных заболеваний. Водные фармацевтические композиции, используемые для данных исследований, охарактеризованы в табл. 11.1.

Таблица 11.1

	В 1,0 мл	В предварительно наполненном шприце (0,9 мл)
Левелимаб	180 мг	162 мг
Натрия ацетата тригидрат	0,436 мг	0,392 мг
Глицин	7,5 мг	6,8 мг или 6,75 мг
Маннитол	23,0 мг	20,7 мг
Кислота уксусная ледяная	До pH 5,0	До pH 5,0
Вода для инъекций	До 1,0 мл	До 0,9 мл

Было показано, что различные дозы фармацевтических композиций левелимаба по настоящему изобретению и/или препарата Левелимаб (также обозначенного в примерах 5 и 6 как LVL и BCD-089), включающий водные фармацевтически композиции левелимаба по настоящему изобретению, охарактеризованные в табл. 11.1, являются подходящими для лечения соответствующих IL-6-ассоциированных заболеваний.

Пример 5. Международное многоцентровое сравнительное рандомизированное двойное слепое плацебо-контролируемое клиническое исследование эффективности и безопасности препарата левелимаба в разных режимах дозирования у больных активным ревматоидным артритом.

Исследование включало период скрининга, основной период (в ходе которого пациенты получали терапию в заслепленном режиме), открытый период (в ходе которого пациенты получали терапию в открытом режиме) и период последующего наблюдения:

скрининг-период (28 - 42 дня),

основной период исследования: неделя 0 - неделя 12,

открытый период (неделя 12 - неделя 52).

Период последующего наблюдения (4 календарных недели вплоть до недели 56).

В исследование включались мужчины и женщины в возрасте 18 - 80 лет включительно, с достоверным диагнозом ревматоидного артрита, соответствующим критериям ACR 2010, установленным минимум за 6 месяцев до даты подписания информированного согласия, получавших терапию метотрексатом не менее трех месяцев и не менее последних 4 недель в стабильной дозе, и при сохранении активности заболевания на момент подписания информированного согласия и сохранение активности ревматоидного артрита несмотря на проведенную в рамках скринингового периода (4-6 недель) терапию метотрексатом без значимой сопутствующей патологии, в соответствии с критериями включения и невключения в исследование.

Итоговая выборка в данном исследовании составила 105 пациентов:

35 пациентов рандомизированы в группу, получавшую препарат левелимаб в дозе 162 мг подкожно 1 раз в неделю (группа LVL QW);

35 пациентов рандомизированы в группу, получавшую препарат левелимаб в дозе 162 мг подкожно 1 раз в 2 недели (группа LVL Q2W);

35 пациентов рандомизированы в группу, получавшую плацебо (группа Плацебо/LVL Q2W) на протяжении первых 12 недель лечения.

Начиная с 12 недели пациенты этой группы получали терапию левелимабом, в дозе 162 мг подкожно в режиме 1 раз в 2 недели до 52 недели исследования.

Исследуемый лекарственный препарат.

МНН: левелимаб - моноклональное антитело против рецептора интерлейкина-6, раствор для инъекций, 180 мг/мл.

Дозы: 162 мг/0,9 мл.

Путь введения: подкожный.

Длительность лечения левелимабом.

Группа LVL QW: 53 недели (неделя 0 - неделя 52). Пациенты данной группы могли получить мак-

симум 53 введения препарата левилимаб.

В группе LVL Q2W 53 недели (неделя 0 - неделя 52). Пациенты данной группы могли получить максимум 27 введений препарата левилимаб.

В группе плацебо/LVL Q2W: 41 неделя (неделя 12 - неделя 52). Пациенты данной группы могли получить максимум 21 введение препарата левилимаб за анализируемый период.

Конечные точки для оценки эффективности основного периода исследования.

Первичная конечная точка.

Доля больных ревматоидным артритом в каждой группе, у которых к 12 неделе от момента первого введения BCD-089/плацебо было достигнуто улучшение в течение болезни, соответствующее ACR20.

Дополнительные конечные точки для основного периода исследования:

Доля больных ревматоидным артритом в каждой группе, у которой было достигнуто улучшение в течение болезни, соответствующее ACR20, к 4 и 8 неделям от момента первого введения BCD-089/плацебо.

Доля больных ревматоидным артритом в каждой группе, у которых было достигнуто улучшение в течение болезни, соответствующее ACR50/70, к 4, 8 и 12 неделям от момента первого введения BCD-089/плацебо.

Доля больных в каждой группе с низкой активностью РА согласно индексу DAS28-CRP(4) (DAS28-CRP(4)<3,2) CDAI (CDAI<10, SDAI (SDAI<11) к 4, 8 и 12 неделям от момента первого введения BCD-089/плацебо.

Изменение индексов DAS28-CRP(4), CDAI и SDAI на 12 неделе по сравнению с исходными значениями.

Изменение скорости оседания эритроцитов на 12 неделе терапии по сравнению с исходными значениями.

Дополнительные конечные точки для открытого периода исследования.

Доля больных ревматоидным артритом, у которых было достигнуто улучшение в течение болезни, соответствующее ACR20/50/70 к 16, 24, 36, 48 и 52 неделе от момента первого введения BCD-089.

Доля больных с низкой активностью РА согласно индексу DAS28-CRP(4) (DAS28-CRP(4)<3,2) CDAI (CDAI<10), SDAI (SDAI<11) к 16, 24, 36, 48 и 52 неделям от момента первого введения BCD-089.

Изменение индексов DAS28-CRP(4), CDAI и SDAI по сравнению с исходными значениями.

Доля больных, достигших ремиссии согласно критериям ACR/EULAR 2011 к 24, 36, 48 и 52 неделям терапии BCD-089.

Оценка качества жизни пациентом до лечения, через 24 и 52 недели после первого введения BCD-089 согласно опроснику SF36.

Изменение скорости оседания эритроцитов по сравнению с исходными значениями.

Рентгенологическая характеристика пораженных суставов через 52 недели после первого введения BCD-089.

Изменение среднего значения общего балла согласно оценке по методу Sharp в модификации van der Heijde (1989 г.).

Доля больных с повышением рентгенологической стадии ревматоидного артрита (при оценке по методу Штейнброекера).

Конечная точка для оценки фармакодинамики.

Вторичные конечные точки.

Фармакодинамика была проанализирована с помощью определения концентрации аналитов, перечисленных ниже, в сыворотке крови методом твердофазного ИФА:

растворимого рецептора к интерлейкину-6,

С-реактивного белка,

ИЛ-6 (IL-6).

ФНО α .

Вторичные конечные точки.

E_{\min} (минимальная концентрация С-РБ в сыворотке крови).

ET_{\min} (время достижения минимальной концентрации С-РБ).

$AUEC_{0-last}$ (площадь под кривой "концентрация для С-РБ, SIL-6R, ФНО α и IL-6-время" (AUC - от англ. "area under curve") от момента введения препарата до последнего измерения концентрации).

E_{\max} (максимальная концентрация SIL-6R в сыворотке крови).

ET_{\max} (время достижения максимальной концентрации SIL-6R).

Конечные точки для оценки безопасности.

Доля пациентов с нежелательными явлениями, в том числе серьезными, в каждой группе.

Доля пациентов с серьезными нежелательными явлениями в каждой группе.

Доля пациентов с нежелательными явлениями 3-4 степени в каждой группе.

Доля пациентов с нейтропенией 3-4 степени в каждой группе.

Доля пациентов в каждой группе с нежелательными явлениями, характерными для использования

ингибиторов рецептора IL-6:

повышение активности АЛТ/АСТ;

лейкопения/нейтропения;

тромбоцитопения;

инфекции верхних дыхательных путей; флегмоны; пневмонии; инфекции, вызываемые Herpes Simplex 1 типа и Herpes Zoster; дивертикулит;

повышение общего холестерина/ЛПВП/ЛПНП/триглицеридов.

Доля пациентов, досрочно прекративших участие в исследовании в связи с развитием НЯ/СНЯ, в каждой группе.

Конечная точка для оценки иммуногенности.

Основной период исследования.

Доля пациентов с выявленными связывающими и/или нейтрализующими антителами к препарату BCD-089 на неделе 12.

Открытый период исследования.

Доля пациентов с выявленными связывающими и/или нейтрализующими антителами к препарату BCD-089 на неделях 24 и 52.

Результаты оценки эффективности.

Применение левилимаба на протяжении года характеризовалось продолжающимся ростом числа пациентов с улучшением в течение болезни. При этом наименее выраженный ответ, соответствующий ACR20, достигался большинством пациентов в течение первых 24 недель терапии, и в дальнейшем рост числа ответчиков обеспечивался, за счет достижения пациентами ACR50 и в большей степени ACR70 (фиг. 9, 10, 11).

Начиная с недели 4 терапии, доли пациентов с низкой активностью РА в группе LVL QW была численно выше по сравнению с группой LVL Q2W для индексов CDAI и SDAI, а для DAS28-CRP(4) различия достигали статистической значимости на неделе 12. Индексы DAS-28-CRP(4), CDAI и SDAI демонстрировали отчетливую положительную динамику на протяжении 52 недель терапии, отражая уменьшение выраженности клинической симптоматики РА. В течение первых 12 недель терапии изменения индексов численно были более выражены в группе LVL QW по сравнению с группой LVL Q2W, а для индекса DAS28-CRP(4) различия достигали статистической значимости также к 12 неделе (фиг. 12). В целом, динамика активности РА, отражаемая как долями пациентов с низкой активностью, так и изменениями индексов, свидетельствует о более высоком темпе клинического ответа в группе LVL QW.

Частота достижения ремиссии в течении РА (по ACR/EULAR 2011) была сопоставима на 52 неделе терапии в группах LVL QW и LVL Q2W, однако несмотря на отсутствие статистической значимости различий, в группе LVL QW наблюдались численно более высокие значения показателя на неделях 24, 36 и 48 по сравнению с LVL Q2W, что, также, подтверждает более высокий темп клинического ответа в группе пациентов, применявших препарат один раз в неделю (фиг. 13).

Анализ изменений СОЭ относительно исходного уровня на фоне терапии левилимабом выявил, что в группах LVL QW и LVL Q2W уже после первого введения исследуемого препарата, наблюдалось выраженное снижение скорости оседания эритроцитов, которая достигала минимальных значений в течение первых 2-4-х недель терапии и в дальнейшем существенно не изменялась, оставаясь минимальной до конца исследования (фиг. 14).

Анализ результатов оценки физического (PH) и психологического (MH) компонентов качества жизни по опроснику SF-36 показал, что терапия левилимабом сопровождается улучшением оценки пациентами как физического, так и психологического компонентов качества жизни.

Оценка рентгенологических изменений в суставах (по Sharp в модификации van der Heijde) показала, что на фоне терапии левилимабом абсолютные значения показателя между скринингом и неделей 52 статистически значимо не различались. Однако анализ изменений показателя, выявил статистически значимое различие между группами LVL QW и LVL Q2W ($p=0,0494$) на неделе 52. В группе LVL QW не наблюдалось изменений общего бала в течение года, а в группе LVL Q2W нарастание рентгенологических изменений было выявлено у 3 пациентов. Повышение рентгенологической стадии РА по методу Штейнбокера было зарегистрировано лишь у одного пациента группы Плацебо/LVL Q2W.

Оценка показателя доля пациентов с повышением рентгенологической стадии ревматоидного артрита не выявила пациентов с прогрессированием рентгенологической стадии по методу Штейнбокера в группах LVL QW и LVL Q2W.

Полученные данные об эффективности по первичной конечной точке подтвердили гипотезу о превосходстве эффективности препарата левилимаб над плацебо во всех исследуемых популяциях (PP и ITT), как при использовании схемы 1 раз в неделю, так и 1 раз в 2 недели, и, следовательно, позволили сделать вывод об эффективности обоих исследованных режимов дозирования препарата левилимаб у пациентов с активным ревматоидным артритом и достижении исследованием своей цели. При этом, более частое введение исследуемого препарата - 1 раз в неделю в течение года, показало несколько лучшую эффективность по сравнению с режимом 1 раз в 2 недели, как по времени достижения, так и по величине ответа на терапию.

Анализ данных по безопасности применения препарата левелимаб у пациентов с активным ревматоидным артритом в течение 1 года, показал, что препарат левелимаб в дозе 162 мг независимо от режима введения обладает благоприятным профилем безопасности и низкой иммуногенностью.

На фоне терапии исследуемым препаратом происходит выраженное изменение сывороточных концентраций фармакодинамических маркеров -нарастание концентрации sIL-6R, IL-6 и снижение концентрации СРБ. Режим дозирования 1 раз в неделю обеспечивает существенно более выраженный рост концентрации sIL-6R (характерный для группы ингибиторов sIL-6R) и характеризуется тенденцией к более быстрому и выраженному снижению концентрации СРБ. В целом, динамика фармакодинамических маркеров свидетельствует о высокоэффективной нейтрализации растворимого рецептора к IL-6 препаратом левелимаб, что, в свою очередь, проявляется быстрым и выраженным снижением сывороточной концентрации СРБ, отражающим эффективное подавление воспалительного процесса у пациентов с активным ревматоидным артритом. При этом, введение препарата левелимаб в режиме 1 раз в 1 неделю обладает большей эффективностью в отношении фармакодинамических маркеров по сравнению с режимом 1 раз в 2 недели.

Пример 6. Оценка фармакодинамики.

В качестве фармакодинамических маркеров в данном исследовании использовались сывороточные концентрации растворимого рецептора к интерлейкину-6 (sIL-6R), С-реактивного белка (СРБ).

В анализ фармакодинамических параметров были включены данные 104 пациентов: 35 пациентов получавших п/к введение левелимаба 1 раз в неделю (группа BCD-089 QW), 34 пациента получавших п/к введение левелимаба 1 раз в 2 недели (группа BCD-089 Q2W), и 35 пациентов группы Плацебо.

Из анализа фармакодинамики был исключен 1 пациент группы BCD-089 Q2W, - отозвавший информированное согласие на участие в исследовании на визите 1 до первого введения исследуемого препарата.

Оценка концентраций растворимого рецептора к IL-6 (sIL-6R).

Концентрация sIL-6R в сыворотке крови (отражает блокирование рецептора исследуемым препаратом, характерное для препаратов группы ингибиторов sIL6R) нарастала в сыворотке крови пациентов обеих групп исследуемого препарата и достигала наибольших значений (E_{max}) в группе BCD-089 QW (3240960 [1937060-4108080] пг/мл через 2016 [1344-2016] ч. В группе BCD-089 Q2W E_{max} составила 1835030 [1536920-3020400] пг/мл через 2016 [1344; 2016] часов. В группе Плацебо, нарастания концентрации sIL-6R не наблюдалось, E_{max} составила 228440 [168822-367380] пг/мл через 96 [48-504] часов. Статистически значимые различия были выявлены как между группами исследуемого препарата и плацебо ($p < 0,0001$; критерий Краскелла-Уоллиса), так и между группами исследуемого препарата ($p = 0,0112$; критерий Краскелла-Уоллиса).

Подробно, результаты статистического анализа концентрации sIL-6R представлены в таблице ниже.

Введенная доза BCD-089 определяла значения показателей площади под кривой концентрация/время ($AUEC_{0-last}$), которые достигали значимо высоких значений в группах BCD-089 QW и с BCD-089 Q2W и Плацебо ($p < 0,0001$; критерий Краскелла-Уоллиса). При этом, различия между исследуемыми группами также имели значимые различия ($p = 0,0066$; критерий Краскелла-Уоллиса) (фиг. 15).

Таблица 12

Фармакодинамические показатели сывороточных концентраций sIL-6 в исследуемых группах

Показатель	Параметр	BСD-089 QW	BСD-089 Q2W	Плацебо	Значение р
AUEC _(0-last) (нг/мл)·ч	Количество	35	34	35	< 0,0001*
	Среднее значение	3877477378,6	3057063565,8	301313346,86	
	Среднее геометрическое значение	3642811867,1	2587908634,4	245387910,79	
	Медиана	3635343120	2525842488	251449656	
	Минимум	1564731384	319388184	81350940	
	Максимум	8077128000	7928934000	832511280	
	Н. квартиль	2929609584	1785569760	138218772	
	В. квартиль	4739909412	3865588620	440677152	
	СО	1446141280,7	1821875372,7	195707647,11	
КВ %	37,296	59,596	64,952		
E _{max} нг/мл	Количество	35	34	35	< 0,0001*
	Среднее значение	3279889,143	2396267,647	273365,143	
	Среднее геометрическое значение	2936587,689	2070172,48	239274,305	
	Медиана	3240960	1835030	228440	
	Минимум	1154240	881020	79488	
	Максимум	7154640	5869560	704160	
	Н. квартиль	1937060	1536920	168822	
	В. квартиль	4108080	3020400	367380	
	СО	1590726,089	1423477,899	147917,298	
КВ %	48,499	59,404	54,11		
E _{Tmax} час	Количество	35	34	35	< 0,0001*
	Среднее значение	1598,4	1680	318,857	
	Среднее геометрическое значение	1492,272	1564,577	0	
	Медиана	2016	2016	96	
	Минимум	504	336	0	
	Максимум	2016	2016	2016	
	Н. квартиль	1344	1344	48	
	В. квартиль	2016	2016	504	
	СО	497,988	494,579	450,865	
КВ %	31,155	29,439	141,4		

Примечание: * - критерий Краскелла-Уоллиса

Оценка концентрации С-реактивного белка.

Концентрации С-реактивного белка в сыворотке крови пациентов групп демонстрировали отчетливое снижение на фоне проводимой терапии. Максимальное снижение было выявлено в группе BCD-089 QW - E_{min}, составили 0 [0; 404] нг/мл и достигалось через 672 [336; 1344] часа. В группе BCD-089 Q2W, соответствующие значения составили 72 [0; 421] нг/мл, которые достигались через 1344 [504; 2016] часов, при этом, значимые различия между группами отсутствовали (p>0,05).

В группе Плацебо минимальная концентрация СРБ составляла 1421 [1087; 2266] нг/мл, которая наблюдалась через 336 [96; 672] часа.

Показатели E_{min} и E_{Tmin} в группе плацебо значимо отличались от соответствующих показателей в обеих группах исследуемого препарата (фиг. 16).

Фармакодинамические показатели С-реактивного белка в сыворотке крови пациентов

Показатель	Параметр	BCD-089 QW	BCD-089 Q2W	Плацебо	Значение p
AUEC _(0-1week) (пг/мл)·ч	Количество	35	34	35	< 0,0001 ⁴
	Среднее значение	1154300,229	1629603,424	4462112,914	
	Среднее геометрическое значение	887762,324	1240190,492	4129894,127	
	Медиана	1204572	1383354	4620132	
	Минимум	89676	130068	1506708	
	Максимум	2647728	4877364	7380132	
	Н. квартиль	420144	786024	3022260	
	В. квартиль	1701996	2155956	5696520	
	CO	689530,689	1132721,345	1664872,408	
	КВ %	59,736	69,509	37,311	
E _{min} нг/мл	Количество	35	34	35	< 0,0001 ⁴
	Среднее значение	177,543	256,353	1600,829	
	Среднее геометрическое значение	0	0	0	
	Медиана	0	72	1421	
	Минимум	0	0	0	
	Максимум	805	1381	3363	
	Н. квартиль	0	0	1087	
	В. квартиль	404	421	2266	
	CO	257,904	340,909	772,04	
	КВ %	145,263	132,984	48,228	
E _{min} час	Количество	35	34	35	< 0,0001 ⁴
	Среднее значение	905,143	1210,588	544,457	
	Среднее геометрическое значение	697,386	1000,641	268,995	
	Медиана	672	1344	336	
	Минимум	96	168	24	
	Максимум	2016	2016	2016	
	Н. квартиль	336	504	96	
	В. квартиль	1344	2016	672	
	CO	594,912	648,396	584,171	
	КВ %	65,726	53,56	107,294	

На фоне терапии исследуемым препаратом наблюдалось выраженное изменение сывороточных концентраций фармакодинамических маркеров -нарастание концентрации SIL-6R и снижение концентрации СРБ.

Полученные значения фармакодинамических показателей характеризовались статистически значимыми различиями с полученными у пациентов группы Плацебо. Кроме того, параметры, характеризующие концентрацию SIL-6R (Рост концентрации которого отражает блокирование рецептора исследуемым препаратом и характерен для препаратов группы ингибиторов sIL6R) также имели значимые различия между группами исследуемого препарата. При этом наблюдалась тенденция к более быстрому и выраженному снижению концентрации СРБ в группе BCD-089 qw по сравнению с BCD-089 Q2W, однако, данные различия были не значимыми.

В целом, динамика фармакодинамических маркеров свидетельствует о высокоэффективной нейтрализации растворимого рецептора к IL-6 препаратом BCD-089, что, в свою очередь, проявляется быстрым и выраженным снижением сывороточной концентрации СРБ, свидетельствующем об эффективном подавлении воспалительного процесса у пациентов с активным ревматоидным артритом. Введение препарата BCD-089 в режиме 1 раз в неделю продемонстрировало лучшую эффективность в отношении фар-

макодинамических маркеров, по сравнению с режимом 1 раз в 2 недели.

Известно, что применение анти-IL-6R терапии эффективно при синдроме высвобождения цитокинов и взрослом (остром) респираторном дистресс синдроме. Принимая во внимание полученные данные фармакодинамики левелимаба, свидетельствующие о его способности эффективно блокировать сигналинг IL-6 можно заключить, что препарат левелимаб будет эффективен в терапии синдрома высвобождения цитокинов (СВЦ) и взрослого (острого) респираторного дистресс синдрома (ОРДС).

СВЦ относят к основной причине летальности пациентов с SARS-CoV, MERS-CoV и COVID-19, при этом наблюдающийся у этих пациентов повышенный уровень интерлейкина 6 (IL-6) коррелирует с уровнем С-реактивного белка (СРБ), дыхательной недостаточностью, ОРДС и неблагоприятными клиническими исходами.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Водная фармацевтическая композиция левелимаба, содержащая:
 - (i) 5-220 мг/мл левелимаба;
 - (ii) 0,4-1,8 мг/мл натрия ацетата тригидрата;
 - (iii) 20-50 мг/мл полиола;
 - (iv) 5-10 мг/мл глицина и
 - (v) уксусную кислоту до pH 4,5-6,5.
2. Водная фармацевтическая композиция по п.1, где левелимаб находится в концентрации 5-40 мг/мл.
3. Водная фармацевтическая композиция по п.1, где левелимаб находится в концентрации 20 мг/мл.
4. Водная фармацевтическая композиция по п.1, где левелимаб находится в концентрации 180-220 мг/мл.
5. Водная фармацевтическая композиция по п.1, где левелимаб находится в концентрации 180 мг/мл.
6. Водная фармацевтическая композиция по любому из пп.1-5, где указанный натрия ацетата тригидрат находится в концентрации 0,4-1,0 мг/мл.
7. Водная фармацевтическая композиция по любому из пп.1-5, где указанный натрия ацетата тригидрат находится в концентрации 0,4-0,5 мг/мл.
8. Водная фармацевтическая композиция по любому из пп.1-5, где указанный натрия ацетата тригидрат находится в концентрации 0,436 мг/мл.
9. Водная фармацевтическая композиция по любому из пп.1-8, где указанный полиол находится в концентрации 20-26 мг/мл.
10. Водная фармацевтическая композиция по любому из пп.1-8, где указанный полиол находится в концентрации 23 мг/мл.
11. Водная фармацевтическая композиция по любому из пп.1-8, где указанный полиол выбран из маннитола или сорбитола или их комбинации.
12. Водная фармацевтическая композиция по любому из пп.1-11, где указанный глицин находится в концентрации 7-8 мг/мл.
13. Водная фармацевтическая композиция по любому из пп.1-11, где указанный глицин находится в концентрации 7,5 мг/мл.
14. Водная фармацевтическая композиция по любому из пп.1-13, где указанная уксусная кислота добавлена до pH 5,0.
15. Водная фармацевтическая композиция по п.1, содержащая:
 - (i) 20 мг/мл левелимаба;
 - (ii) 0,436 мг/мл натрия ацетата тригидрата;
 - (iii) 23 мг/мл полиола, выбранного из маннитола или сорбитола;
 - (iv) 7,5 мг/мл глицина и
 - (v) уксусную кислоту до pH 5,0.
16. Водная фармацевтическая композиция по п.1, содержащая:
 - (i) 180 мг/мл левелимаба;
 - (ii) 0,436 мг/мл натрия ацетата тригидрата;
 - (iii) 23 мг/мл полиола, выбранного из маннитола или сорбитола;
 - (iv) 7,5 мг/мл глицина и
 - (v) уксусную кислоту до pH 5,0.
17. Водная фармацевтическая композиция левелимаба, содержащая:
 - (i) 5-220 мг/мл левелимаба;
 - (ii) 0,4-1,8 мг/мл натрия ацетата тригидрата;
 - (iii) 10-32 мг/мл аргинина гидрохлорида и
 - (iv) уксусную кислоту до pH 4,5-6,5.
18. Водная фармацевтическая композиция по п.17, где левелимаб находится в концентрации 5-40 мг/мл.

19. Водная фармацевтическая композиция по п.17, где левилимаб находится в концентрации 20 мг/мл.
20. Водная фармацевтическая композиция по п.17, где левилимаб находится в концентрации 180-220 мг/мл.
21. Водная фармацевтическая композиция по п.17, где указанный левилимаб находится в концентрации 180 мг/мл.
22. Водная фармацевтическая композиция по любому из пп.17-21, где указанный натрия ацетата тригидрат находится в концентрации 1,7-1,8 мг/мл.
23. Водная фармацевтическая композиция по любому из пп.17-21, где указанный натрия ацетата тригидрат находится в концентрации 1,744 мг/мл.
24. Водная фармацевтическая композиция по любому из пп.17-23, где указанный аргинина гидрохлорид находится в концентрации 18-24 мг/мл.
25. Водная фармацевтическая композиция по любому из пп.17-23, где указанный аргинина гидрохлорид находится в концентрации 21,1 мг/мл.
26. Водная фармацевтическая композиция по любому из пп.17-25, где указанная уксусная кислота добавлена до pH 5,0.
27. Водная фармацевтическая композиция по п.17, содержащая:
- (i) 20 мг/мл левилимаба;
 - (ii) 1,744 мг/мл натрия ацетата тригидрата;
 - (iii) 21,1 мг/мл аргинина гидрохлорида и
 - (iv) уксусную кислоту до pH 5,0.
28. Водная фармацевтическая композиция по п.17, содержащая:
- (i) 180 мг/мл левилимаба;
 - (ii) 1,744 мг/мл натрия ацетата тригидрата;
 - (iii) 21,1 мг/мл аргинина гидрохлорида и
 - (iv) уксусную кислоту до pH 5,0.
29. Водная фармацевтическая композиция левилимаба, содержащая:
- (i) 162 мг левилимаба;
 - (ii) 0,392 мг натрия ацетата тригидрата;
 - (iii) 20,7 мг полиола, выбранного из маннитола или сорбитола;
 - (iv) 6,75 мг глицина;
 - (v) уксусную кислоту до pH 5,0 и
 - (vi) воду для инъекций до 0,9 мл.
30. Водная фармацевтическая композиция левилимаба, содержащая:
- (i) 162 мг левилимаба;
 - (ii) 1,57 мг натрия ацетата тригидрата;
 - (iii) 18,99 мг аргинина гидрохлорида;
 - (iv) уксусную кислоту до pH 5,0 и
 - (v) воду для инъекций до 0,9 мл.
31. Водная фармацевтическая композиция по любому из пп.1-30, где указанная уксусная кислота является ледяной уксусной кислотой.
32. Водная фармацевтическая композиция по любому из пп.1-31, где указанная композиция предназначена для парентерального введения.
33. Водная фармацевтическая композиция по любому из пп.1-31, где указанная композиция предназначена для внутримышечного, внутривенного или подкожного введения.
34. Водная фармацевтическая композиция по любому из пп.1-31, где указанная композиция находится во флаконе.
35. Водная фармацевтическая композиция по п.34, где указанный флакон представляет собой стеклянный или полимерный флакон.
36. Водная фармацевтическая композиция по любому из пп.34 и 35, где указанный флакон имеет объем 4-20 мл.
37. Водная фармацевтическая композиция по п.31, где указанный флакон имеет объем 4, 10 или 20 мл.
38. Водная фармацевтическая композиция по любому из пп.1-31, где указанная композиция находится в шприце или автоинжекторе.
39. Водная фармацевтическая композиция по п.38, где указанный шприц или автоинжектор является стеклянным или полимерным.
40. Водная фармацевтическая композиция по любому из пп.38 и 39, где указанный шприц или автоинжектор имеет вместимость 1 мл.
41. Водная фармацевтическая композиция по любому из пп.1-31, где указанная композиция находится в преднаполненном шприце или в преднаполненном автоинжекторе.
42. Водная фармацевтическая композиция по п.41, где указанный преднаполненный шприц или преднаполненный автоинжектор является стеклянным или полимерным.

43. Водная фармацевтическая композиция по пп.41 и 42, где указанный предзаполненный шприц или преднаполненный автоинжектор имеет вместимость 1 мл.

44. Применение водной фармацевтической композиции левелимаба по любому из пп.1, 17, 29, 30 для лечения или профилактики IL6R-ассоциированного заболевания или нарушения.

45. Применение по п.44, где IL6R-ассоциированное заболевание или нарушение выбрано из ревматоидного артрита, ювенильного хронического артрита, склеродермии, реакции "трансплантат против хозяина", отторжения трансплантата органа, острого или хронического иммунного заболевания, связанного с трансплантацией органа, кахексии, взрослого (острого) респираторного дистресс-синдрома, болезни Стилла, системной склеродермии, синдрома Шегрена, болезни/артериита Такаясу, нарушений, связанных с цитокиновой терапией, синдрома выброса цитокинов (синдром высвобождения цитокинов), иридоциклита, увеита, оптического неврита, оптического нейромиелита, ювенильного ревматоидного артрита, гигантоклеточного артериита, полиартикулярного ювенильного идиопатического артрита, системного ювенильного идиопатического артрита; рака, в частности множественной миеломы и злокачественных солидных опухолей, колоректального рака, рака предстательной железы, рака яичника.

46. Применение по п.44, где указанную водную фармацевтическую композицию вводят парентерально.

47. Применение по п.46, где указанную водную фармацевтическую композицию вводят внутримышечно, внутривенно или подкожно.

48. Применение водной фармацевтической композиции левелимаба по любому из пп.1, 17, 29, 30 для лечения ревматоидного артрита.

49. Применение по п.48, где указанную водную фармацевтическую композицию вводят в дозе левелимаба 162 мг.

50. Применение по п.48, где указанную водную фармацевтическую композицию вводят один раз в неделю или один раз каждые две недели.

51. Применение по п.48, где указанную водную фармацевтическую композицию вводят парентерально.

52. Применение по п.51, где указанную водную фармацевтическую композицию вводят внутримышечно, внутривенно или подкожно.

53. Применение по п.48, дополнительно включающее применение метотрексата.

54. Применение водной фармацевтической композиции левелимаба по любому из пп.1, 17, 29, 30 для лечения активного ревматоидного артрита.

55. Применение по п.54, где указанную водную фармацевтическую композицию вводят в дозе левелимаба 324 или 648 мг.

56. Применение по п.54, где указанную водную фармацевтическую композицию вводят 1 раз в 2 недели, или 1 раз в 4 недели, или 1 раз в 6 недель.

57. Применение по п.54, где указанную водную фармацевтическую композицию вводят парентерально.

58. Применение по п.57, где указанную водную фармацевтическую композицию вводят внутримышечно, внутривенно или подкожно.

59. Применение по п.54, дополнительно включающее применение метотрексата.

60. Применение водной фармацевтической композиции левелимаба по любому из пп.1, 17, 29, 30 для лечения или профилактики взрослого (острого) респираторного дистресс-синдрома или синдрома выброса цитокинов (синдром высвобождения цитокинов).

61. Применение по п.60, где указанную водную фармацевтическую композицию вводят в дозе левелимаба 324 или 648 мг.

62. Применение по п.60, где указанную водную фармацевтическую композицию вводят однократно, или двукратно, или трехкратно, или четырехкратно с интервалом минимум 8 ч.

63. Применение по п.60, где указанную водную фармацевтическую композицию вводят парентерально.

64. Применение по п.63, где указанную водную фармацевтическую композицию вводят внутримышечно, внутривенно или подкожно.

65. Способ получения водной фармацевтической композиции по п.1, включающий комбинирование 5-220 мг/мл левелимаба с

0,4-1,8 мг/мл натрия ацетата тригидрата;

20-50 мг/мл полиола;

5-10 мг/мл глицина и

уксусной кислотой до pH 4,5-6,5.

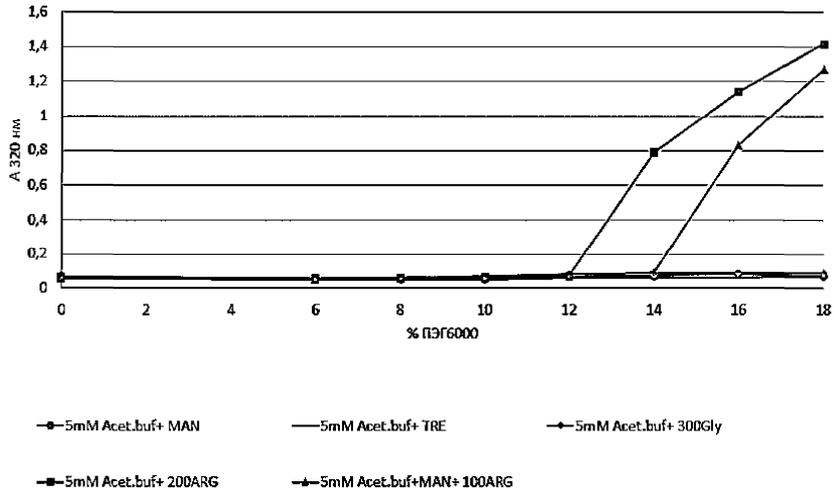
66. Способ получения водной фармацевтической композиции по п.17, включающий комбинирование 5-220 мг/мл левелимаба с

0,4-1,8 мг/мл натрия ацетата тригидрата;

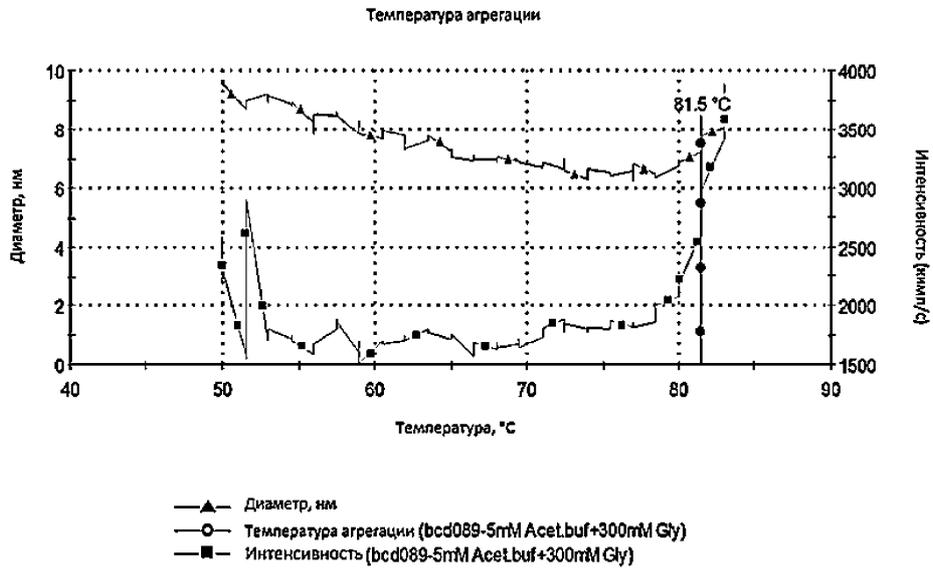
10-32 мг/мл аргинина гидрохлорида и

уксусной кислотой до pH 4,5-6,5.

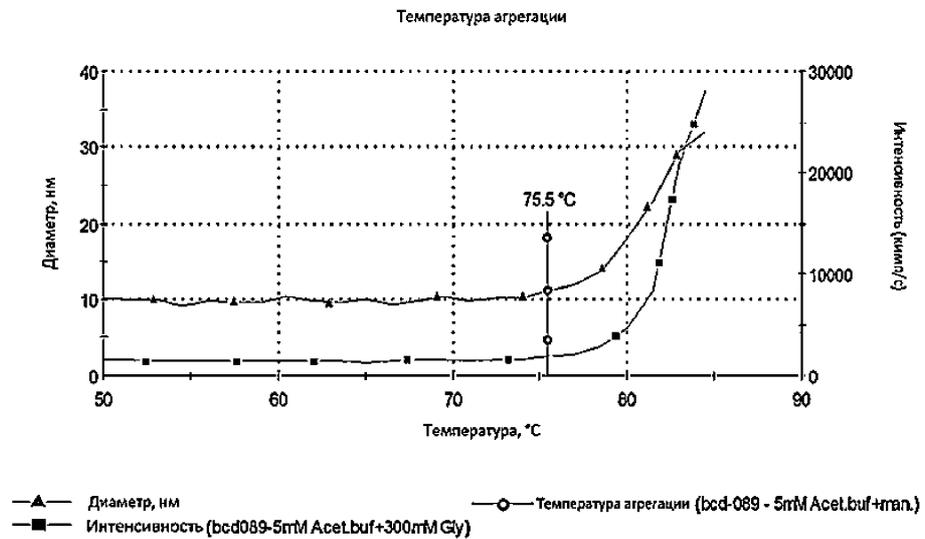
67. Способ по любому из пп.65 и 66, где указанная уксусная кислота является ледяной уксусной кислотой.



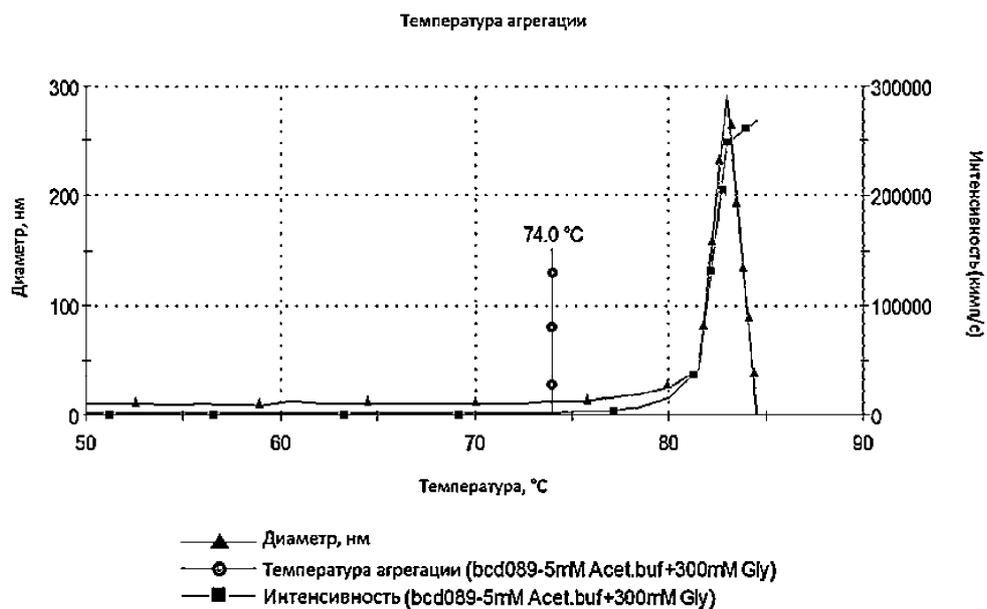
Фиг. 1



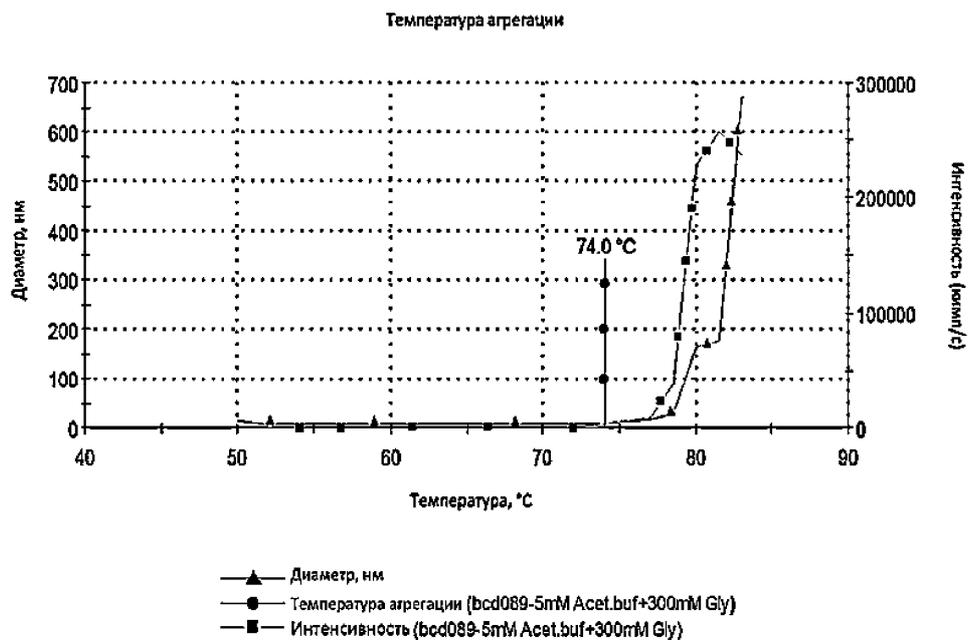
Фиг. 2



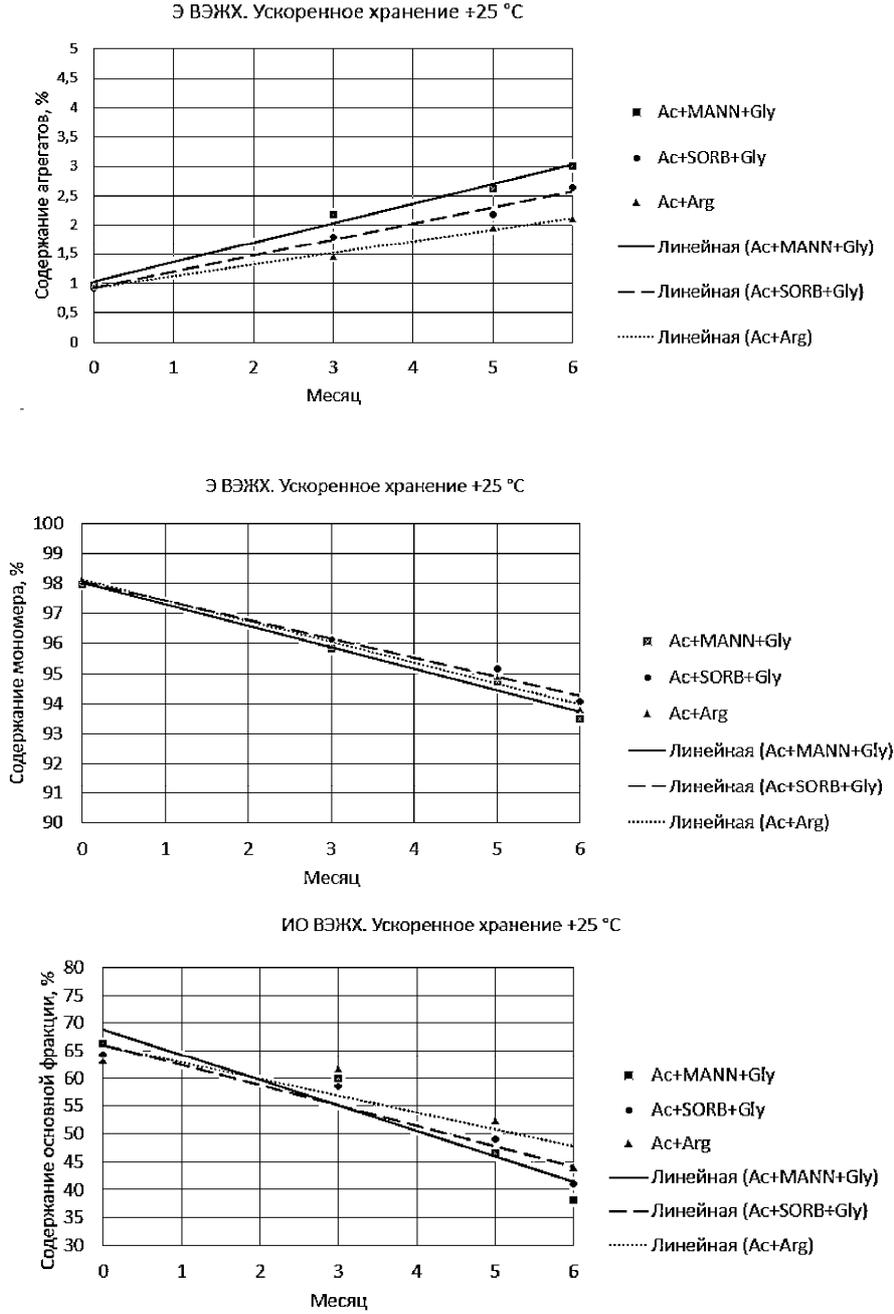
Фиг. 3

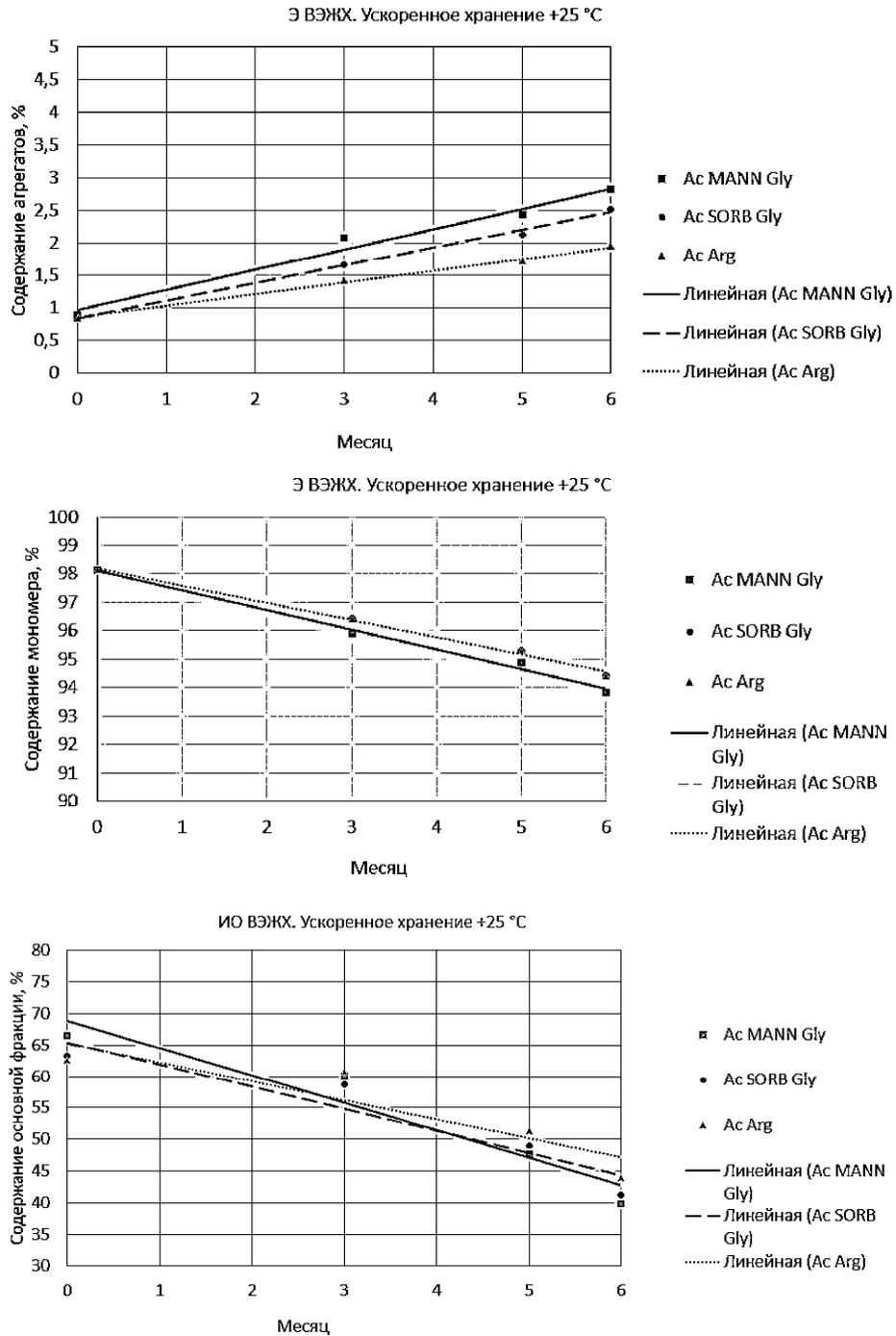


Фиг. 4

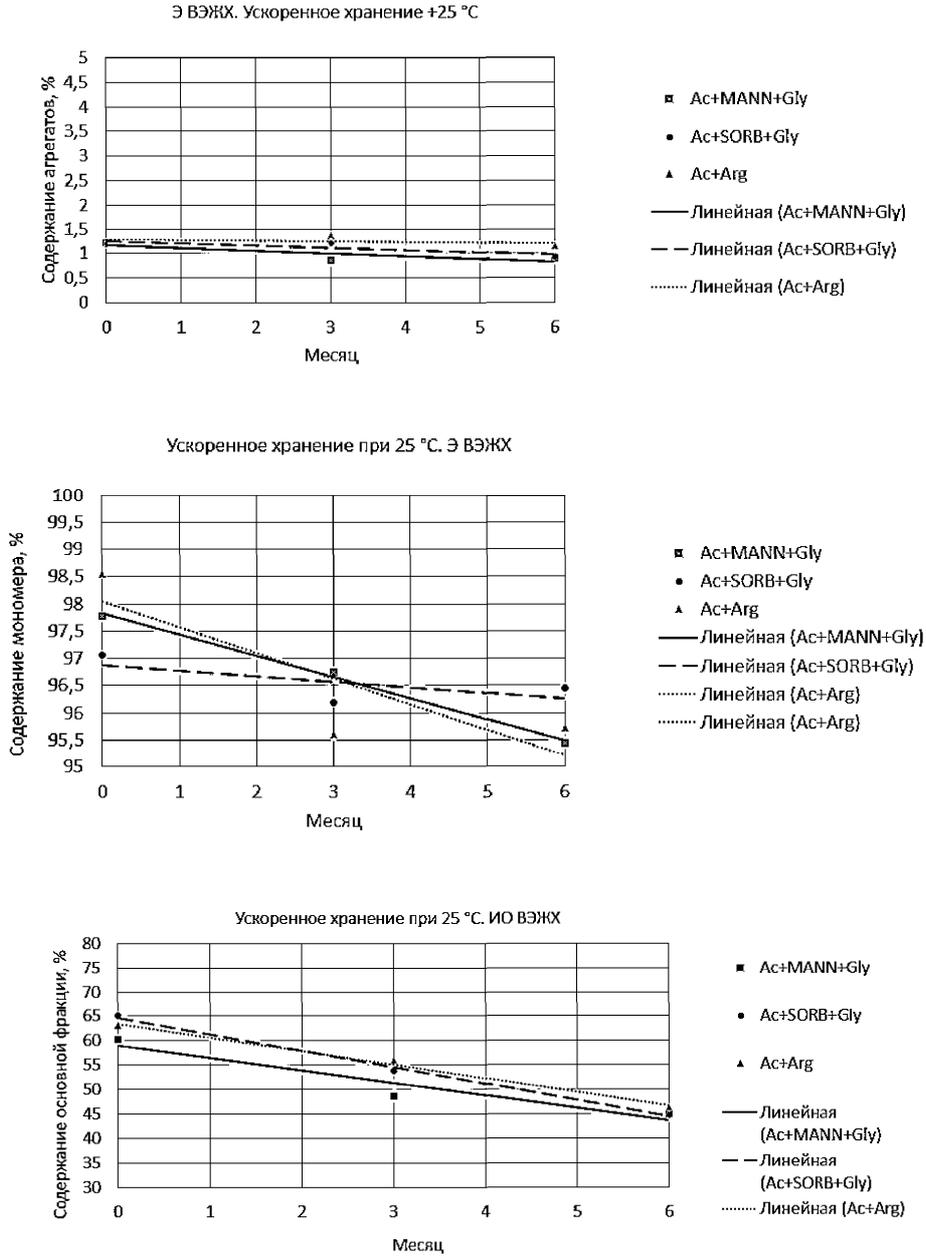


Фиг. 5

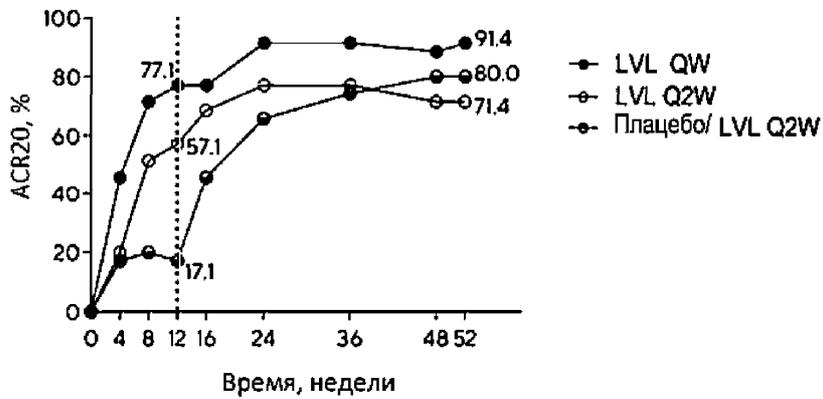




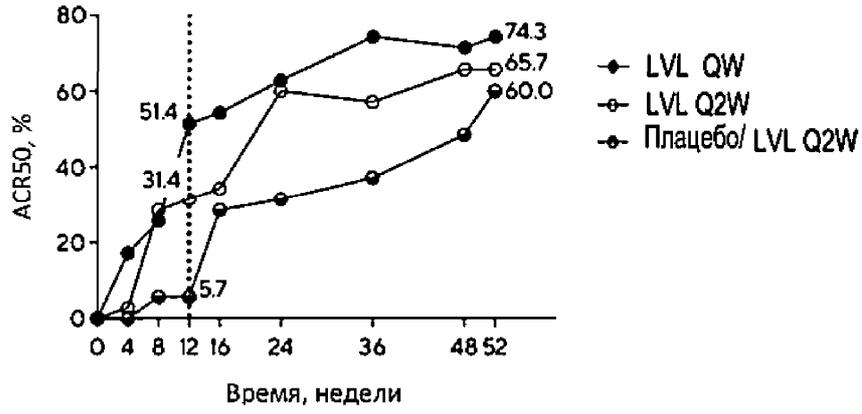
Фиг. 7



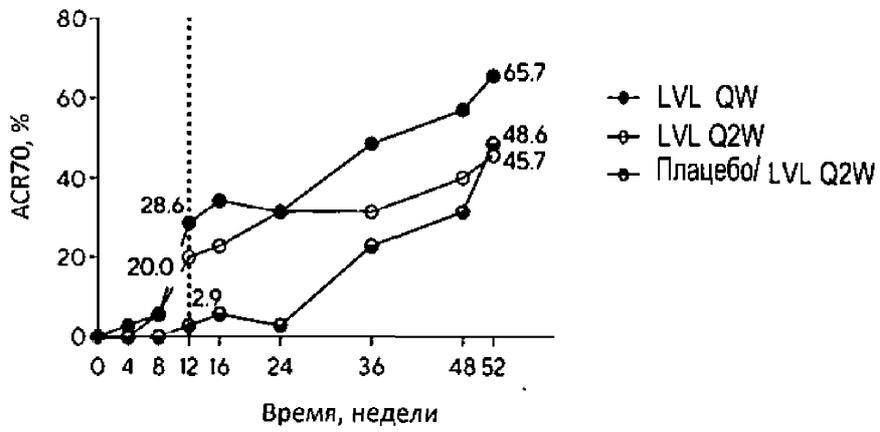
Фиг. 8



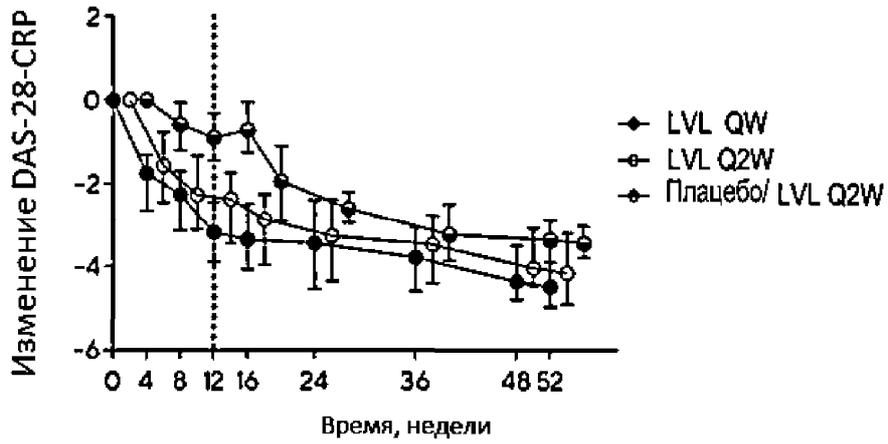
Фиг. 9



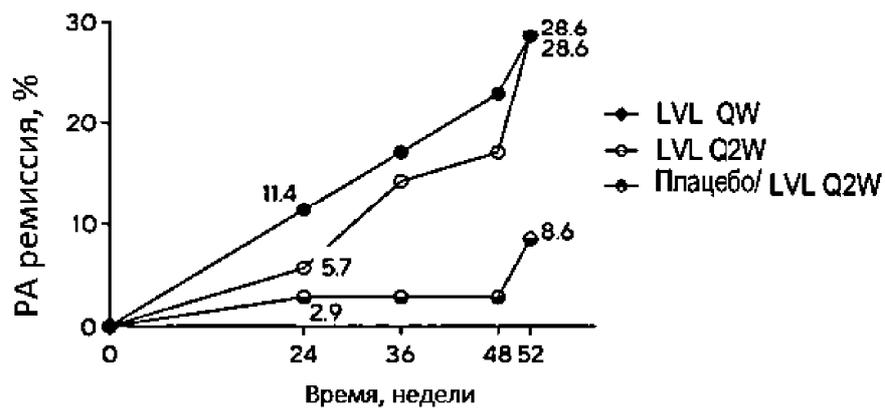
Фиг. 10



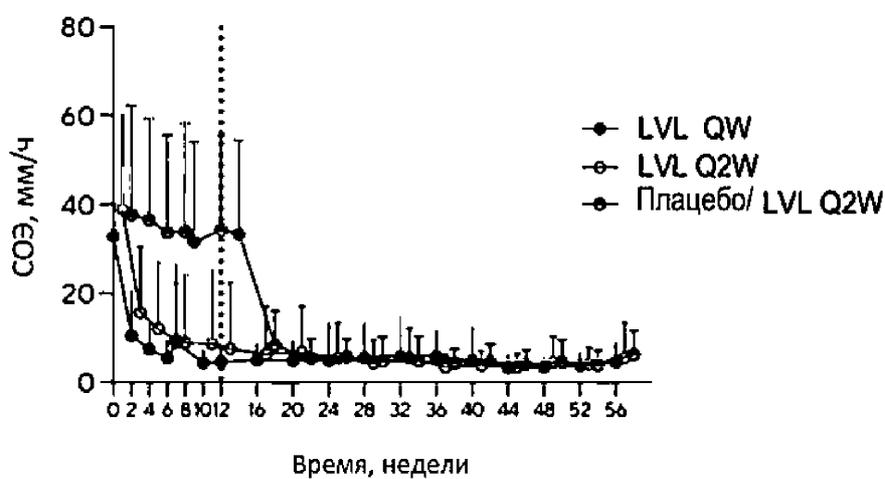
Фиг. 11



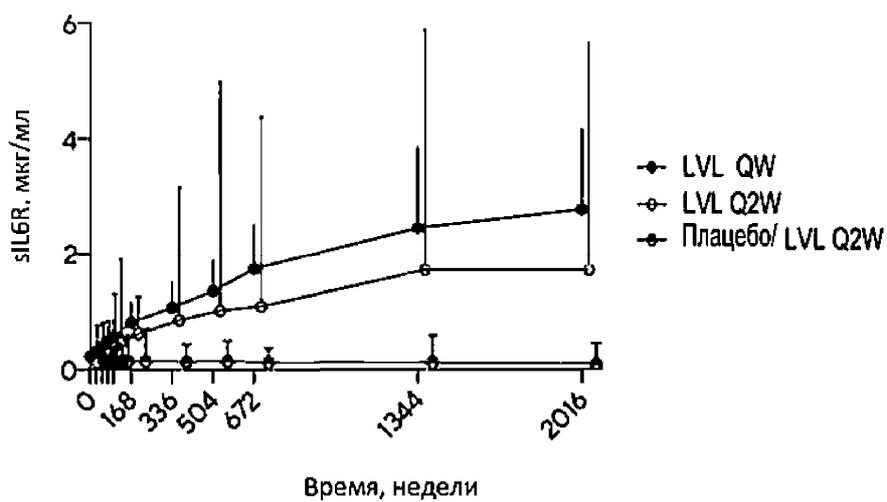
Фиг. 12



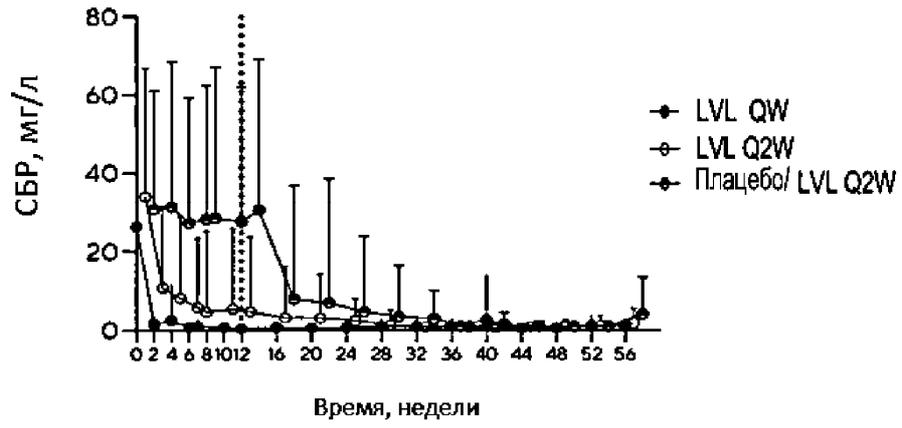
Фиг. 13



Фиг. 14



Фиг. 15



Фиг. 16

