

(19)



**Евразийское  
патентное  
ведомство**

(11) **047391**

(13) **B1**

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

(45) Дата публикации и выдачи патента  
**2024.07.15**

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

(21) Номер заявки  
**201890747**

(22) Дата подачи заявки  
**2016.09.15**

---

(54) **СПОСОБЫ ЛЕЧЕНИЯ ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ**

---

(31) **62/220,410; 62/235,654; 62/295,643;**

**62/328,863; 62/335,242; 62/339,192**

(32) **2015.09.18; 2015.10.01; 2016.02.16;**  
**2016.04.28; 2016.05.12; 2016.05.20**

(33) **US**

(43) **2018.10.31**

(86) **PCT/US2016/051844**

(87) **WO 2017/048901 2017.03.23**

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:  
**БЁРИНГЕР ИНГЕЛЬХАЙМ  
ИНТЕРНАЦИОНАЛЬ ГМБХ (DE)**

(72) Изобретатель:  
**Бёхер Вульф Отто, Галлер Аннетте  
Беттина (DE), Лалович Боян,  
Пэдьюла Стивен Джон, Шолль Пол,  
Вишванатан Судха (US)**

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

(56) **WO-A1-2014143540  
WO-A1-2008103473  
WO-A1-2011056600  
WO-A1-2013165791**

---

(57) Изобретение в целом относится к способам лечения заболеваний, связанных с IL-23, в особенности воспалительных заболеваний, таких как болезнь Крона, используя антитела к IL-23A.

---

**B1**

**047391**

**047391**

**B1**

### **Область техники, к которой относится изобретение**

Изобретение в целом относится к способу лечения воспалительных заболеваний, например, болезни Крона (CD), используя антитела к IL-23A.

#### **Предпосылки создания изобретения**

Болезнь Крона (CD) представляет собой хроническое рецидивирующее, ремиттирующее воспалительное заболевание желудочно-кишечного тракта, которое характеризуется болью в области живота, лихорадкой и диареей, содержащей слизистые, кровянистые выделения. Болезнь поражает желудочно-кишечный тракт от ротовой полости до прямой кишки, но в большинстве случаев подвздошную кишку и ободочную кишку (40%), затем только тонкий кишечник (30%), и только толстый кишечник (25%). Заболевание встречается в относительно молодой популяции и отсутствуют существенные половые отличия.

Полагают, что частота CD возрастает, достигая, согласно последним исследованиям, от 7,9 до 20,2 случаев /100 тыс. населения, и преимущественно от 161 до 319 случаев/100 тыс. населения в Северной Америке и Европе. Поражения слизистой оболочки могут осложняться перфорацией и образованием фистул, которые могут нуждаться в госпитализации для терапевтического или хирургического лечения.

Существует потребность в терапевтических подходах для лечения воспалительных заболеваний, в особенности болезни Крона, которые приводят к благоприятным исходам для пациентов, например, относительно эффективности, безопасности и/или переносимости лечения.

#### **Сущность изобретения**

Настоящее изобретение решает вышеуказанные проблемы и обеспечивает способы лечения воспалительных заболеваний, в особенности способы, которые включают введение антитела к IL-23A пациенту в определенных количествах и/или через определенные интервалы. В одном аспекте, способ согласно настоящему изобретению предназначен для лечения болезни Крона. В другом аспекте, способ согласно настоящему изобретению предназначен для лечения язвенного колита.

Способы согласно настоящему изобретению обеспечивают преимущество для пациентов, предоставляя возможность им получить клиническое улучшение, получая при этом меньше введений антитела к IL-23A.

В одном варианте осуществления, настоящее изобретение обеспечивает способ лечения воспалительного заболевания, в одном аспекте лечения болезни Крона, который включает: (а) введение пациенту дозы антитела к IL-23A в неделю 0, в неделю 4 и в неделю 8 путем внутривенной инфузии, где дозы антитела к IL-23A содержат 200 мг или 600 мг антитела. В другом варианте осуществления, способ дополнительно включает (б) введение пациенту трех доз антитела к IL-23A, например, в неделю 14, в неделю 18 и в неделю 22 путем внутривенной инфузии, где дозы антитела к IL-23A содержат 600 мг антитела. В другом варианте осуществления, способ дополнительно включает (в) введение пациенту одной или нескольких доз антитела к IL-23A с интервалами 8 недель путем подкожной инъекции, например, четыре дозы антитела к IL-23A с интервалами 8 недель путем подкожной инъекции, например, в неделю 26, в неделю 34, в неделю 42 и в неделю 50, где одна или несколько доз антитела к IL-23A содержат 180 мг антитела.

В одном варианте осуществления, в неделю 12, пациента оценивают относительно полной ремиссии, например, определяемой как достижение клинической ремиссии (CDAI показатель < 150) и эндоскопической ремиссии (CDEIS ≤ 4). В другом аспекте, для пациента с начальным изолированным илеитом эндоскопическая ремиссия определяется по CDEIS ≤ 2.

В другом варианте осуществления, настоящее изобретение обеспечивает способ лечения воспалительного заболевания, в одном аспекте лечения болезни Крона, который включает (а) введение пациенту дозы антитела к IL-23A в неделю 0, в неделю 4 и в неделю 8 путем внутривенной инфузии, где дозы антитела к IL-23A содержат 200 мг или 600 мг антитела. В другом варианте осуществления, способ дополнительно включает (б) введение пациенту одной или нескольких доз антитела к IL-23A с интервалами 8 недель путем подкожной инъекции, например, четыре дозы антитела к IL-23A с интервалами 8 недель путем подкожной инъекции, например, в неделю 26, в неделю 34, в неделю 42 и в неделю 50, где одна или несколько доз антитела к IL-23A содержат 180 мг антитела.

В одном варианте осуществления, в неделю 12, пациента оценивают относительно полной ремиссии, например, определяемой как достижение клинической ремиссии (CDAI показатель <150) и эндоскопической ремиссии (CDEIS ≤ 4). В другом аспекте, для пациента с начальным изолированным илеитом эндоскопическая ремиссия определяется по CDEIS ≤ 2.

В другом варианте осуществления, настоящее изобретение обеспечивает способ лечения воспалительного заболевания, в одном аспекте лечения болезни Крона, который включает введение пациенту 180 мг антитела к IL-23A с интервалами 8 недель путем подкожной инъекции.

В одном варианте осуществления, настоящее изобретение обеспечивает способ лечения воспалительного заболевания, в одном аспекте лечения болезни Крона, который включает введение пациенту антитела к IL-23A, где указанный способ включает введение по меньшей мере одной индуцирующей дозы антитела к IL-23A пациенту, где указанная индуцирующая доза содержит 200-1200 мг антитела к IL-23A, например, 450-1200 мг антитела к IL-23A. В другом аспекте, индуцирующая доза содержит

200 мг, 450 мг, 600 мг, 900 мг или 1200 мг антитела к IL-23A. В одном аспекте, 1, 2 или 3 индуцирующие дозы вводят пациенту. В одном аспекте, 2 или 3 индуцирующие дозы вводят, например, с интервалами 4 недели. В одном аспекте, индуцирующую(ые) дозу(ы) вводят путем внутривенной инфузии.

В одном варианте осуществления, индуцирующие дозы содержат 200 мг антитела к IL-23A и три индуцирующие дозы вводят пациенту с интервалами 4 недели.

В одном варианте осуществления, индуцирующие дозы содержат 450 мг антитела к IL-23A и три индуцирующие дозы вводят пациенту с интервалами 4 недели.

В одном варианте осуществления, индуцирующие дозы содержат 600 мг антитела к IL-23A и три индуцирующие дозы вводят пациенту с интервалами 4 недели.

В одном варианте осуществления, индуцирующие дозы содержат 900 мг антитела к IL-23A и три индуцирующие дозы вводят пациенту с интервалами 4 недели.

В одном варианте осуществления, индуцирующие дозы содержат 1200 мг антитела к IL-23A и три индуцирующие дозы вводят пациенту с интервалами 4 недели.

В одном варианте осуществления, по меньшей мере одну дополнительную индуцирующую дозу антитела к IL-23A вводят пациенту после последней индуцирующей дозы, как указано выше. В одном аспекте, дополнительная индуцирующая доза содержит 200-1200 мг антитела к IL-23A, например, 450 - 1200 мг антитела к IL-23A. В одном аспекте, дополнительная индуцирующая доза содержит 200 мг, 450 мг, 600 мг, 900 мг или 1200 мг антитела к IL-23A. В одном аспекте, 1, 2 или 3 дополнительные индуцирующие дозы вводят пациенту. В одном аспекте, 2 или 3 дополнительные индуцирующие дозы вводят, например, с интервалами 4 недели. В одном аспекте, дополнительную(ые) индуцирующую(ие) дозу(ы) вводят путем внутривенной инфузии.

В одном варианте осуществления, пациент имеет CDAI показатель 220-450 перед введением первой индуцирующей дозы.

В одном варианте осуществления, пациент достигает клинической ремиссии после введения одной или нескольких индуцирующих доз. В одном варианте осуществления, пациент достигает CDAI показателя меньше чем 150 после введения одной или нескольких индуцирующих доз. В одном варианте осуществления, пациент достигает PRO-2 показателя, равного или меньше чем 75 после введения одной или нескольких индуцирующих доз. В одном варианте осуществления, пациент достигает CDAI показателя меньше чем 150 и PRO-2 показатель, равный или меньше чем 75 после введения одной или нескольких индуцирующих доз.

В одном варианте осуществления, настоящее изобретение дополнительно обеспечивает способ индуцирования клинической ремиссии болезни Крона у пациента, который включает введение пациенту анти-IL-23 антитела, как описано ранее в настоящей заявке или в дальнейшем.

В одном варианте осуществления, настоящее изобретение дополнительно обеспечивает способ индуцирования клинического улучшения на болезнь Крона у пациента, который включает введение пациенту анти-IL-23 антитела, как описано ранее в настоящей заявке или в дальнейшем.

В одном варианте осуществления, способ дополнительно включает введение первой поддерживающей дозы антитела к IL-23A пациенту после введения последней индуцирующей дозы и введение по меньшей мере одной дополнительной поддерживающей дозы пациенту через 4-12 недель после введения первой поддерживающей дозы. В одном аспекте, первую поддерживающую дозу вводят через 2-8 недель, например, 4-6 недель, например, 2 недели, 4 недели, 6 недель или 8 недель, после введения последней индуцирующей дозы. В одном аспекте, по меньшей мере одну дополнительную поддерживающую дозу вводят пациенту 4, 8 или 12 недель после введения первой поддерживающей дозы.

В одном варианте осуществления, первая поддерживающая доза содержит 150 -300 мг антитела к IL-23A. В одном аспекте, первая поддерживающая доза содержит 150 мг, 225 мг или 300 мг антитела к IL-23A. В одном аспекте, первая поддерживающая доза содержит 180 мг или 270 мг антитела к IL-23A. В одном аспекте, по меньшей мере одна дополнительная поддерживающая доза содержит 150-300 мг антитела к IL-23A. В одном аспекте, по меньшей мере одна дополнительная поддерживающая доза содержит 150 мг, 225 мг или 300 мг антитела к IL-23A. В одном аспекте, по меньшей мере одна дополнительная поддерживающая доза содержит 180 мг или 270 мг антитела к IL-23A.

В одном аспекте, первая поддерживающая доза и по меньшей мере одна дополнительная поддерживающая доза содержат 150-300 мг антитела к IL-23A. В одном аспекте, первая поддерживающая доза и по меньшей мере одна дополнительная поддерживающая доза содержат 150 мг, 225 мг или 300 мг указанного антитела к IL-23A. В одном аспекте, первая поддерживающая доза и по меньшей мере одна дополнительная поддерживающая доза содержат 180 мг или 270 мг указанного антитела к IL-23A. В одном аспекте, поддерживающую дозу вводят путем подкожной инъекции.

В одном варианте осуществления, поддерживающие дозы содержат 150 мг антитела к IL-23A и вводят пациенту с интервалами 4 недели.

В одном варианте осуществления, поддерживающие дозы содержат 150 мг антитела к IL-23A и вводят пациенту с интервалами 8 недель.

В одном варианте осуществления, поддерживающие дозы содержат 225 мг антитела к IL-23A и вводят пациенту с интервалами 8 недель.

В одном варианте осуществления, поддерживающие дозы содержат 225 мг антитела к IL-23А и вводят пациенту с интервалами 12 недель.

В одном варианте осуществления, поддерживающие дозы содержат 300 мг антитела к IL-23А и вводят пациенту с интервалами 8 недель.

В одном варианте осуществления, поддерживающие дозы содержат 300 мг антитела к IL-23А и вводят пациенту с интервалами 12 недель.

В одном варианте осуществления, пациент поддерживает клиническую ремиссию, после введения одной или нескольких поддерживающих доз. В одном варианте осуществления, пациент поддерживает CDAI показатель меньше чем 150, после введения одной или нескольких поддерживающих доз. В одном варианте осуществления, пациент поддерживает PRO-2 показатель, равный или меньше чем 75, после введения одной или нескольких поддерживающих доз. В одном варианте осуществления, пациент поддерживает CDAI показатель меньше чем 150 и PRO-2 показатель, равный или меньше чем 75, после введения одной или нескольких поддерживающих доз.

В одном варианте осуществления, настоящее изобретение дополнительно обеспечивает способ поддержания клинической ремиссии болезни Крона у пациента, который включает введение пациенту анти-IL-23 антитела, как описано ранее в настоящей заявке или в дальнейшем.

В одном варианте осуществления, настоящее изобретение дополнительно обеспечивает способ поддержания клинического улучшения болезни Крона у пациента, который включает введение пациенту анти-IL-23 антитела, как описано ранее в настоящей заявке или в дальнейшем.

В одном варианте осуществления, настоящее изобретение дополнительно обеспечивает способ лечения болезни Крона путем индуцирования и поддержания клинической ремиссии у пациента, который включает введение пациенту анти-IL-23 антитела, как описано ранее в настоящей заявке или в дальнейшем.

В одном варианте осуществления, настоящее изобретение дополнительно обеспечивает способ поддержания эндоскопической ремиссии болезни Крона у пациента, который включает введение пациенту анти-IL-23 антитела, как описано ранее в настоящей заявке или в дальнейшем.

В одном варианте осуществления, настоящее изобретение обеспечивает способ индуцирования клинической ремиссии болезни Крона, который включает введение пациенту антитела к IL-23А, где указанный способ включает введение по меньшей мере одной индуцирующей дозы указанного антитела к IL-23А пациенту, где указанная индуцирующая доза содержит 200-1200 мг указанного антитела к IL-23А. В одном варианте осуществления, индуцирующая доза содержит 450-1200 мг указанного антитела к IL-23А. В одном варианте осуществления, индуцирующая доза содержит 200 мг, 450 мг, 600 мг, 900 мг или 1200 мг указанного антитела к IL-23А. В одном варианте осуществления, 1, 2 или 3 индуцирующие дозы вводят пациенту. В одном варианте осуществления, 2 или 3 индуцирующие дозы вводят с интервалами 4 недели. В одном варианте осуществления, индуцирующую(ые) дозу(ы) вводят путем внутривенной инфузии. В одном варианте осуществления, пациент имеет CDAI показатель 220-450 перед указанным введением. В одном варианте осуществления, пациент достигает CDAI показателя меньше чем 150. В одном варианте осуществления, пациент достигает PRO-2 показателя, равного или меньше чем 75. В одном варианте осуществления, способ дополнительно включает поддержание клинической ремиссии болезни Крона, указанный способ дополнительно включает введение первой поддерживающей дозы указанного антитела к IL-23А пациенту после введения последней индуцирующей дозы, и введение по меньшей мере одной дополнительной поддерживающей дозы пациенту через 4-12 недель после введения первой поддерживающей дозы. В одном варианте осуществления, первую поддерживающую дозу вводят через 2-8 недель, например, 4-6 недель, например, 2 недели, 4 недели, 6 недель или 8 недель, после введения последней индуцирующей дозы. В одном варианте осуществления, по меньшей мере одну дополнительную поддерживающую дозу вводят пациенту через 4, 8 или 12 недель после введения указанной первой поддерживающей дозы. В одном варианте осуществления, первая поддерживающая доза содержит 150-300 мг указанного антитела к IL-23А. В одном варианте осуществления, первая поддерживающая доза содержит 150 мг, 225 мг или 300 мг указанного антитела к IL-23А. В одном варианте осуществления, первая поддерживающая доза содержит 180 мг или 270 мг указанного антитела к IL-23А. В одном варианте осуществления, по меньшей мере одна дополнительная поддерживающая доза содержит 150-300 мг указанного антитела к IL-23А. В одном варианте осуществления, по меньшей мере одна дополнительная поддерживающая доза содержит 150 мг, 225 мг или 300 мг указанного антитела к IL-23А. В одном варианте осуществления, по меньшей мере одна дополнительная поддерживающая доза содержит 180 мг или 270 мг указанного антитела к IL-23А. В одном варианте осуществления, первая поддерживающая доза и указанная по меньшей мере одна дополнительная поддерживающая доза содержат 150-300 мг указанного антитела к IL-23А. В одном варианте осуществления, первая поддерживающая доза и указанная по меньшей мере одна дополнительная поддерживающая доза содержат 150 мг, 225 мг или 300 мг указанного антитела к IL-23А. В одном варианте осуществления, первая поддерживающая доза и указанная по меньшей мере одна дополнительная поддерживающая доза содержат 180 мг или 270 мг указанного антитела к IL-23А. В одном варианте осуществления, поддерживающую дозу вводят путем подкожной инъекции. В одном варианте осуществления, пациент поддерживает CDAI показатель

меньше чем 150. В одном варианте осуществления, пациент поддерживает PRO-2 показатель, равный или меньше чем 75.

В одном варианте осуществления, настоящее изобретение обеспечивает способ лечения воспалительного заболевания, в одном аспекте лечения болезни Крона, который включает введение пациенту 150-1200 мг антитела к IL-23A. В одном аспекте, способ включает введение пациенту 200 мг-1200 мг антитела к IL-23A, например, 450-1200 мг антитела к IL-23A. В одном аспекте, способ включает введение пациенту 200 мг, 450 мг, 600 мг, 900 мг или 1200 мг антитела к IL-23A. В одном аспекте, способ включает введение пациенту 150-300 мг антитела к IL-23A. В одном аспекте, способ включает введение пациенту 150 мг, 225 мг или 300 мг антитела к IL-23A. В одном аспекте, способ включает введение пациенту 180 мг или 270 мг антитела к IL-23A.

В одном варианте осуществления, в любом из вышеописанных способов, антитело к IL-23A представляет собой антитело А, антитело В, антитело С или антитело D.

В одном варианте осуществления, в любом из вышеописанных способов, способ предназначен для лечения болезни Крона, например, среднетяжелой или тяжелой активной болезни Крона. В одном аспекте, в контексте способа согласно настоящему изобретению пациент ранее не получал лечения, или ранее получал лечение с применением анти-TNF терапии. В одном аспекте, в контексте способа согласно настоящему изобретению пациент ранее получал лечение с применением одного, двух, трех или более TNF антагонистов. В одном варианте осуществления, пациент представляет собой пациента, который имел неадекватную ответную реакцию с, был нетолерантным к, или проявлял зависимость от кортикостероидов. В одном варианте осуществления, пациент представляет собой пациента, который имел неадекватную ответную реакцию с потерей ответной реакции, или был нетолерантным к иммуномодулятору, TNF $\alpha$  ингибитору (или TNF антагонисту) или ингибитору интегрина. В одном варианте осуществления, лечение осуществляли путем индуцирования и поддержания клинической ремиссии, ремиссии без применения кортикостероидов, эндоскопической ремиссии и заживления слизистой оболочки.

В одном варианте осуществления, пациент, подвергаемый лечению с помощью способа в соответствии с настоящим изобретением, имеет CDAI показатель 220-450.

В одном варианте осуществления, в любом из вышеописанных способов, пациент представляет собой взрослого пациента.

В одном варианте осуществления, в любом из вышеописанных способов, способ предназначен для лечения язвенного колита.

В одном аспекте, настоящее изобретение обеспечивает антитело к IL-23A для применения для лечения заболевания, например, воспалительного заболевания, например, болезни Крона, путем введения в определенных количествах и/или через определенные интервалы, как описано в настоящей заявке. В одном аспекте, воспалительное заболевание представляет собой язвенный колит.

В одном аспекте, настоящее изобретение обеспечивает применение антитела к IL-23A для приготовления лекарственного средства для лечения заболевания, например, воспалительного заболевания, например, болезни Крона, путем введения в определенных количествах и/или через определенные интервалы, как описано в настоящей заявке. В одном аспекте, воспалительное заболевание представляет собой язвенный колит.

В одном варианте осуществления, в любом из способов или применений, описанных выше, антитело к IL-23A представляет собой антитело, описанное ниже.

В одном варианте осуществления, антитело к IL-23A содержит переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO:1 (CDR1-L); аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO:2 (CDR2-L); и аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 3 (CDR3-L); и переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 4, 7, 8 или 9 (CDR1-H); аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 5 (CDR2-H); и аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 6 (CDR3-H).

В одном варианте осуществления, антитело к IL-23A содержит переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 1 (CDR1-L); аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 2 (CDR2-L); и аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 3 (CDR3-L); и переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 4 (CDR1-H); аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 5 (CDR2-H); и аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 6 (CDR3-H).

В одном варианте осуществления, антитело к IL-23A содержит переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 1 (CDR1-L); аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 2 (CDR2-L); и аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 3 (CDR3-L); и переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 7 (CDR1-H); аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 5 (CDR2-H); и аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 6 (CDR3-H).



В одном варианте осуществления, антитело к IL-23A представляет собой гуманизованное моноклональное антитело, которое включает вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 10, и вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 15.

В одном варианте осуществления, антитело к IL-23A содержит легкую цепь, которая включает аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 18 или 21, и тяжелую цепь, которая включает аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 19 или 20.

В одном варианте осуществления, антитело к IL-23A содержит легкую цепь, которая включает аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 18, и тяжелую цепь, которая включает аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 19.

В одном варианте осуществления, антитело к IL-23A содержит легкую цепь, которая включает аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 18, и тяжелую цепь, которая включает аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 20.

В одном варианте осуществления, антитело к IL-23A содержит легкую цепь, которая включает аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 21, и тяжелую цепь, которая включает аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 19.

В одном варианте осуществления, антитело к IL-23A содержит легкую цепь, которая включает аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 21, и тяжелую цепь, которая включает аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 20.

В одном варианте осуществления, антитело к IL-23A представляет собой антитело А, антитело В, антитело С или антитело D.

В одном варианте осуществления, антитело к IL-23A представляет собой антитело, как раскрыто в WO2007/005955, WO2007/024846, WO2007/027714, WO2007/076524, WO2008/103432 или WO2012/061448.

В одном варианте осуществления, настоящее изобретение обеспечивает способ обнаружения наличия или отсутствия благоприятной ответной реакции у пациента после введения IL-23A антагониста, который включает: а) получение биологического образца от пациента; б) изменение в указанном образце уровня экспрессии одного или нескольких генов; в) сравнения уровня в б) с уровнем экспрессии одного или нескольких генов в контроле; и г) определение того, будут ли одинаковыми или различаться уровни между образцом и контролем, отражающие благоприятную ответную реакцию у пациента, где один или несколько генов представляют собой один или несколько генов, описанных в настоящей заявке. В одном аспекте, пациент страдает от болезни Крона. В одном аспекте, биологический образец представляет собой ткань ободочной кишки или ткань подвздошной кишки. В одном аспекте, биологический образец отбирают из верхнего желудочно-кишечного тракта (ЖКТ), например, желудка или пищевода. В одном аспекте, IL-23A антагонист представляет собой антитело к IL-23A или его антигенсвязывающий фрагмент, например, антитело А, антитело В, антитело С или антитело D.

#### Краткое описание чертежей

Фиг. 1 - схема эксперимента. Полная ремиссия, определяется как достигаемая клиническая ремиссия (CDAI показатель < 150) и CDEIS ремиссия (CDEIS показатель  $\leq$  4 или 2 или меньше у пациентов с начальным изолированным илеитом).

Фиг. 2А и 2В - доля пациентов с клинической ремиссией (А) или клиническим улучшением (В) в неделю 4, неделю 8 и неделю 12. Клиническая ремиссия определяется как CDAI показатель < 150. Клиническое улучшение представляет собой либо CDAI показатель < 150 или CDAI уменьшение от исходного значения на  $\geq$ 100 баллов. Пациенты, у которых недопустимые препараты комплексной терапии для лечения болезни Крона, использовали до 12 недель, рассматривали как пациентов с неэффективным лечением. Набор данных для полного анализа использовали для этих анализов. \* $p < 0,05$  относительно плацебо, \*\* $p < 0,005$  относительно плацебо, \*\*\* $p < 0,001$  относительно плацебо.

Фиг. 3А-Д - средние показатели CDAI в динамике (А), средние CRP в динамике (В), медиана процентного изменения для FCP относительно исходных данных (С), медиана процентного изменения для IL-22 относительно исходных данных (D). \* $p < 0,001$ , скорректированное р-значение Бонферрони для 600 мг антитела А относительно плацебо. \*\* $p < 0,05$ , скорректированное р-значение Бонферрони для 600 мг антитела А относительно плацебо. CDAI (индекс активности болезни Крона); CRP (С-реактивный белок); FCP (фекальный кальпротектин).

#### Подробное описание

p19 субъединица IL-23 (также обозначается в настоящей заявке как "IL-23A", "IL-23p19" и "p19 субъединица") представляет собой полипептид, состоящий из 189 аминокислот, содержащей лидерную последовательность из 21 ак (Orpmann и др., Immunity 13:715 (2000), SEQ ID NO: 22). Биологическая активность молекулы обнаруживается только тогда, когда она спарена с IL-12p40 субъединицей с образованием IL-23. IL-23 главным образом экспрессируется активированными дендритными клетками (DC) и фагоцитами. Было обнаружено, что рецептор для IL-23 состоит из IL-12R $\beta$ 1 субъединицы IL-12 рецептора, спаренной с единичной субъединицей, которая называется IL-23R (Parham и др., J. Immunol.

168:5699 (2002)). Экспрессия рецептора обнаруживается главным образом на Т-клетках памяти и НК-клетках. Таким образом, полагают, что экспрессия пары цитокин:рецептор ограничивается специфической популяцией иммунных клеток. В то же время, сначала полагали, что IL-12 и IL-23 будут иметь многие общие функции, однако полученные данные показывают другую картину. В то время как IL-12 имеет преобладающую роль в продукции Th1 клеток, было обнаружено, что IL-23 критически важно вовлечен в продукцию и поддержание распознанной недавно субпопуляции Th клеток, обозначенной как Th17 (Kikly и др., Curr. Opin. Immunol. 18:670 (2006), Kastelein и др., Ann. Rev. Immunol. 25:221 (2007)). Эти клетки продуцируют IL-17A, IL-17F, IL-22 и другие провоспалительные цитокины, такие как IL-6 и TNF- $\alpha$ . Как описано ниже, исследования на животных моделях относительно роли этих Th17 клеток показали их важность в качестве движущей силы хронического воспаления и аутоиммунных процессов.

SEQ ID NO: 22:

```
mlgsravmll lllpwtagg r avpggsspaw tqcqqqlsqkl ctlawsahpl vghmdlreeg
deettndvph iqcgdgcdpq glrdnsqfcl qrihqglify ekllgsdift gepslldsp
vgqlhasllg lsqllqpegh hwetqqipsl spsqpwqrll lrfkilrslq afvavaarvf
ahgaatlsp
```

В одном аспекте, настоящее изобретение обеспечивает способы лечения заболеваний, связанных с IL-23A. В одном аспекте, настоящее изобретение обеспечивает способы лечения заболевания, например, воспалительного заболевания, в особенности способы, которые включают введение антитела к IL-23A пациенту в определенных количествах и/или через определенные интервалы. В одном аспекте, способ согласно настоящему изобретению предназначен для лечения болезни Крона.

В одном аспекте, настоящее изобретение обеспечивает антитело к IL-23A для применения для лечения заболевания, например, воспалительного заболевания, например, болезни Крона, путем введения в определенных количествах и/или через определенные интервалы, как описано в настоящей заявке.

В одном аспекте, настоящее изобретение обеспечивает применение антитела к IL-23A для приготовления лекарственного средства для лечения заболевания, например, воспалительного заболевания, например, болезни Крона, путем введения в определенных количествах и/или через определенные интервалы, как описано в настоящей заявке.

В одном варианте осуществления, в контексте настоящего изобретения, лечение пациента включает фазу индукции и поддерживающую фазу. В фазе индукции, одну или несколько доз антитела к IL-23, например, обозначаемые в настоящей заявке как индуцирующие дозы, вводят пациенту, например, путем внутривенной инфузии. В поддерживающей фазе, первую дозу антитела к IL-23, например, обозначаемую в настоящей заявке как поддерживающая доза, вводят пациенту, за которой вводят по меньшей мере одну дополнительную дозу антитела к IL-23, например, обозначаемую в настоящей заявке как поддерживающая доза. Поддерживающие дозы вводят, например, путем подкожной инъекции. Примеры фаз индукции и поддерживающих фаз описаны далее в настоящей заявке.

В одном аспекте, определенный терапевтический результат достигается пациентом, во время или в конце фазы индукции, например, клиническая ремиссия. В одном аспекте, пациент достигает CDAI показателя, равного или меньше чем 150, во время или в конце фазы индукции. В одном аспекте, пациент достигает PRO-2 показателя, равного или меньше чем 75, во время или в конце фазы индукции. В одном аспекте, пациент достигает CDAI показателя меньше чем 150 и PRO-2 показатель, равный или меньше чем 75, во время или в конце фазы индукции.

Таким образом, в одном варианте осуществления, в способе согласно настоящему изобретению, пациента оценивают относительно клинической ремиссии, во время или в конце фазы индукции.

В одном аспекте, если пациент не отвечает в фазе индукции, то фазу индукции повторяют перед началом поддерживающей фазы (также обозначается в настоящей заявке как фаза повторной индукции). В одном аспекте, в способе согласно настоящему изобретению, пациента повторно оценивают относительно клинической ремиссии, во время или в конце фазы повторной индукции, например, во время или после фазы индукции.

В одном аспекте, определенный терапевтический результат поддерживается пациентом, во время поддерживающей фазы, например, клиническая ремиссия. В одном аспекте, пациент поддерживает CDAI показатель меньше чем 150, во время поддерживающей фазы. В одном аспекте, пациент поддерживает PRO-2 показатель, равный или меньше чем 75, во время поддерживающей фазы. В одном аспекте, пациент поддерживает CDAI показатель меньше чем 150 и PRO-2 показатель, равный или меньше чем 75, во время поддерживающей фазы.

Таким образом, в одном варианте осуществления, в способе согласно настоящему изобретению, пациента оценивают относительно клинической ремиссии, во время поддерживающей фазы.

В одном варианте осуществления, настоящее изобретение обеспечивает способ лечения воспалительного заболевания, в одном аспекте лечения болезни Крона, который включает (а) введение пациенту дозы антитела к IL-23A в неделю 0, в неделю 4 и в неделю 8 путем внутривенной инфузии, где дозы ан-

титела к IL-23A содержат 200 мг или 600 мг антитела. В одном варианте осуществления, способ дополнительно включает (б) введение пациенту трех доз антитела к IL-23A, например, в неделю 14, в неделю 18 и в неделю 22 путем внутривенной инфузии, где дозы антитела к IL-23A содержат 600 мг антитела. В одном варианте осуществления, способ дополнительно включает (в) введение пациенту одной или нескольких доз антитела к IL-23A с интервалами 8 недель путем подкожной инъекции, например, четыре дозы антитела к IL-23A с интервалами 8 недель путем подкожной инъекции, например, в неделю 26, в неделю 34, в неделю 42 и в неделю 50, где одна или несколько доз антитела к IL-23A содержат 180 мг антитела.

В одном варианте осуществления, в неделю 12, пациента оценивают относительно полной ремиссии, например, определяемой как достижение клинической ремиссии (CDAI показатель  $< 150$ ) и эндоскопической ремиссии (CDEIS  $\leq 4$ ). В одном аспекте, для пациента с начальным изолированным илеитом эндоскопическая ремиссия определяется по CDEIS  $\leq 2$ .

В одном варианте осуществления, настоящее изобретение обеспечивает способ лечения воспалительного заболевания, в одном аспекте лечения болезни Крона, который включает (а) введение пациенту дозы антитела к IL-23A в неделю 0, в неделю 4 и в неделю 8 путем внутривенной инфузии, где дозы антитела к IL-23A содержат 200 мг или 600 мг антитела. В одном варианте осуществления, способ дополнительно включает (б) введение пациенту одной или нескольких доз антитела к IL-23A с интервалами 8 недель путем подкожной инъекции, например, четыре дозы антитела к IL-23A с интервалами 8 недель путем подкожной инъекции, например, в неделю 26, в неделю 34, в неделю 42 и в неделю 50, где одна или несколько доз антитела к IL-23A содержат 180 мг антитела.

В одном варианте осуществления, в неделю 12, пациента оценивают относительно полной ремиссии, например, определяемой как достижение клинической ремиссии (CDAI показатель  $< 150$ ) и эндоскопической ремиссии (CDEIS  $\leq 4$ ). В одном аспекте, для пациента с начальным изолированным илеитом эндоскопическая ремиссия определяется по CDEIS  $\leq 2$ .

В одном варианте осуществления, настоящее изобретение обеспечивает способ лечения воспалительного заболевания, в одном аспекте лечения болезни Крона, который включает введение пациенту 180 мг антитела к IL-23A с интервалами 8 недель путем подкожной инъекции.

В одном варианте осуществления, введение антитела к 23A в соответствии с настоящим изобретением в дальнейшем описывается в примерах, представленных далее в настоящей заявке, или на фиг. 1.

В одном варианте осуществления, настоящее изобретение обеспечивает способ лечения воспалительного заболевания, в одном аспекте лечения болезни Крона, который включает введение пациенту антитела к IL-23A, где указанный способ включает введение по меньшей мере одной индуцирующей дозы антитела к IL-23A пациенту, где указанная индуцирующая доза содержит 200-1200 мг антитела к IL-23A, например, 450-1200 мг антитела к IL-23A. В одном аспекте, индуцирующая доза содержит 200 мг, 450 мг, 600 мг, 900 мг или 1200 мг антитела к IL-23A. В одном аспекте, 1, 2 или 3 индуцирующие дозы вводят пациенту. В одном аспекте, 2 или 3 индуцирующие дозы вводят, например, с интервалами 4 недели. В одном аспекте, индуцирующую(ые) дозу(ы) вводят путем внутривенной инфузии.

В одном варианте осуществления, индуцирующие дозы содержат 200 мг антитела к IL-23A и три индукционные дозы вводят пациенту с интервалами 4 недели.

В одном варианте осуществления, индуцирующие дозы содержат 450 мг антитела к IL-23A и три индукционные дозы вводят пациенту с интервалами 4 недели.

В одном варианте осуществления, индуцирующие дозы содержат 600 мг антитела к IL-23A и три индукционные дозы вводят пациенту с интервалами 4 недели.

В одном варианте осуществления, индуцирующие дозы содержат 900 мг антитела к IL-23A и три индукционные дозы вводят пациенту с интервалами 4 недели.

В одном варианте осуществления, индуцирующие дозы содержат 1200 мг антитела к IL-23A и три индукционные дозы вводят пациенту с интервалами 4 недели.

В одном аспекте, если пациент не отвечает в фазе индукции, то фазу индукции повторяют перед началом поддерживающей фазы. Например, если первая фаза индукции включает три индуцирующие дозы, то три дополнительные индуцирующие дозы вводят пациенту (фаза повторной индукции), что приводит в целом к шести индуцирующим дозам. Дополнительную(ые) индуцирующую(ие) дозу(ы) содержит(ат), например, количество антитела к IL-23, описанное в настоящей заявке. Дополнительные индуцирующие дозы вводят, например, с интервалом, как описано в настоящей заявке.

В одном варианте осуществления, способ дополнительно включает введение первой поддерживающей дозы антитела к IL-23A пациенту после введения последней индуцирующей дозы; и введение по меньшей мере одной дополнительной поддерживающей дозы пациенту через 4-12 недель после введения первой поддерживающей дозы. В одном аспекте, первую поддерживающую дозу вводят через 2-8 недель, например, 4-6 недель, например, 2 недели, 4 недели, 6 недель или 8 недель, после введения последней индуцирующей дозы. В одном аспекте, по меньшей мере одну дополнительную поддерживающую дозу вводят пациенту 4, 8 или 12 недель после введения первой поддерживающей дозы.

В одном варианте осуществления, первая поддерживающая доза содержит 150 -300 мг антитела к

IL-23A. В одном аспекте, первая поддерживающая доза содержит 150 мг, 225 мг или 300 мг антитела к IL-23A. В одном аспекте, первая поддерживающая доза содержит 180 мг или 270 мг антитела к IL-23A. В одном аспекте, по меньшей мере одна дополнительная поддерживающая доза содержит 150-300 мг антитела к IL-23A. В одном аспекте, по меньшей мере одна дополнительная поддерживающая доза содержит 150 мг, 225 мг или 300 мг антитела к IL-23A. В одном аспекте, по меньшей мере одна дополнительная поддерживающая доза содержит 180 мг или 270 мг антитела к IL-23A.

В одном аспекте, первая поддерживающая доза и по меньшей мере одна дополнительная поддерживающая доза содержат 150-300 мг антитела к IL-23A. В одном аспекте, первая поддерживающая доза и по меньшей мере одна дополнительная поддерживающая доза содержат 150 мг, 225 мг или 300 мг указанного антитела к IL-23A. В одном аспекте, первая поддерживающая доза и по меньшей мере одна дополнительная поддерживающая доза содержат 180 мг или 270 мг указанного антитела к IL-23A. В одном аспекте, поддерживающую дозу вводят путем подкожной инъекции.

В одном варианте осуществления, поддерживающие дозы содержат 150 мг антитела к IL-23A и вводят пациенту с интервалами 4 недели.

В одном варианте осуществления, поддерживающие дозы содержат 150 мг антитела к IL-23A и вводят пациенту с интервалами 8 недель.

В одном варианте осуществления, поддерживающие дозы содержат 225 мг антитела к IL-23A и вводят пациенту с интервалами 8 недель.

В одном варианте осуществления, поддерживающие дозы содержат 225 мг антитела к IL-23A и вводят пациенту с интервалами 12 недель.

В одном варианте осуществления, поддерживающие дозы содержат 300 мг антитела к IL-23A и вводят пациенту с интервалами 8 недель.

В одном варианте осуществления, поддерживающие дозы содержат 300 мг антитела к IL-23A и вводят пациенту с интервалами 12 недель.

В одном варианте осуществления, настоящее изобретение обеспечивает способ лечения воспалительного заболевания, в одном аспекте лечения болезни Крона, который включает введение пациенту 150-1200 мг антитела к IL-23A. В одном аспекте, способ включает введение пациенту 200-1200 мг антитела к IL-23A, например, 450-1200 мг антитела к IL-23A. В одном аспекте, способ включает введение пациенту 200 мг, 450 мг, 600 мг, 900 мг или 1200 мг антитела к IL-23A. В одном аспекте, способ включает введение пациенту 150-300 мг антитела к IL-23A. В одном аспекте, способ включает введение пациенту 150 мг, 225 мг или 300 мг антитела к IL-23A. В одном аспекте, способ включает введение пациенту 180 мг или 270 мг антитела к IL-23A.

В одном варианте осуществления, настоящее изобретение дополнительно обеспечивает способ индуцирования клинической ремиссии болезни Крона у пациента, который включает введение пациенту по меньшей мере одной индуцирующей дозы антитела к IL-23, как описано ранее в настоящей заявке или в дальнейшем. В одном варианте осуществления, способ который дополнительно включает поддержание клинической ремиссии болезни Крона, указанный способ дополнительно включает введение первой поддерживающей дозы указанного антитела к IL-23A пациенту после введения последней индуцирующей дозы и введение по меньшей мере одной дополнительной поддерживающей дозы пациенту, как описано ранее в настоящей заявке или в дальнейшем.

В одном варианте осуществления, настоящее изобретение дополнительно обеспечивает способ индуцирования клинического улучшения на болезнь Крона у пациента, который включает введение пациенту по меньшей мере одной индуцирующей дозы антитела к IL-23, как описано ранее в настоящей заявке или в дальнейшем. В одном варианте осуществления, способ который дополнительно включает поддержание клинического улучшения для болезни Крона, указанный способ дополнительно включает введение первой поддерживающей дозы указанного антитела к IL-23A пациенту после введения последней индуцирующей дозы и введение по меньшей мере одной дополнительной поддерживающей дозы пациенту, как описано ранее в настоящей заявке или в дальнейшем.

Репрезентативные примеры доз и режимы дозирования в соответствии с настоящим изобретением представлены в табл. А.

Таблица А

Дозы и режимы дозирования

Индуцирующая доза (мг)	Частота индуцирующих доз	Поддерживающая доза (мг)	Частота поддерживающих доз
450	Каждые 4 недели	150	Каждые 4 недели
450	Каждые 4 недели	150	Каждые 8 недель
450	Каждые 4 недели	180	Каждые 4 недели
450	Каждые 4 недели	180	Каждые 8 недель
450	Каждые 4 недели	225	Каждые 8 недель
450	Каждые 4 недели	225	Каждые 12 недель

450	Каждые 4 недели	270	Каждые 8 недель
450	Каждые 4 недели	270	Каждые 12 недель
450	Каждые 4 недели	300	Каждые 8 недель
450	Каждые 4 недели	300	Каждые 12 недель
600	Каждые 4 недели	150	Каждые 4 недели
600	Каждые 4 недели	150	Каждые 8 недель
600	Каждые 4 недели	180	Каждые 4 недели
600	Каждые 4 недели	180	Каждые 8 недель
600	Каждые 4 недели	225	Каждые 8 недель
600	Каждые 4 недели	225	Каждые 12 недель
600	Каждые 4 недели	270	Каждые 8 недель
600	Каждые 4 недели	270	Каждые 12 недель
600	Каждые 4 недели	300	Каждые 8 недель
600	Каждые 4 недели	300	Каждые 12 недель
900	Каждые 4 недели	150	Каждые 4 недели
900	Каждые 4 недели	150	Каждые 8 недель
900	Каждые 4 недели	180	Каждые 4 недели
900	Каждые 4 недели	180	Каждые 8 недель
900	Каждые 4 недели	225	Каждые 8 недель
900	Каждые 4 недели	225	Каждые 12 недель
900	Каждые 4 недели	270	Каждые 8 недель
900	Каждые 4 недели	270	Каждые 12 недель
900	Каждые 4 недели	300	Каждые 8 недель
900	Каждые 4 недели	300	Каждые 12 недель
1200	Каждые 4 недели	150	Каждые 4 недели
1200	Каждые 4 недели	150	Каждые 8 недель
1200	Каждые 4 недели	180	Каждые 4 недели
1200	Каждые 4 недели	180	Каждые 8 недель
1200	Каждые 4 недели	225	Каждые 8 недель
1200	Каждые 4 недели	225	Каждые 12 недель
1200	Каждые 4 недели	270	Каждые 8 недель
1200	Каждые 4 недели	270	Каждые 12 недель
1200	Каждые 4 недели	300	Каждые 8 недель
1200	Каждые 4 недели	300	Каждые 12 недель

В одном аспекте, 1, 2 или 3 индуцирующую(ие) дозу(ы) вводят пациенту в режиме дозирования, описанном в табл. А.

Дополнительные репрезентативные примеры доз и режимов дозирования в соответствии с настоящим изобретением описаны в настоящем изобретении ниже. В этих примерах, первую поддерживающую дозу вводят пациенту через 4 недели после последней индуцирующей дозы. Также в настоящем изобретении охватывается введение первой поддерживающей дозы через 2 недели, 6 недель или 8 недель после последней индуцирующей дозы.

Например, в контексте настоящего изобретения, индуцирующие дозы вводят пациенту в неделю 0, неделю 4 и неделю 8, затем вводят первую поддерживающую дозу в неделю 12, вторую поддерживающую дозу в неделю 16, третью поддерживающую дозу в неделю 20 и т.д. с интервалами дозирования 4 недели между поддерживающими дозами. В одном аспекте, индуцирующие дозы содержат 200 мг, 450 мг, 600 мг, 900 мг или 1200 мг антитела к IL-23A. В одном аспекте, поддерживающие дозы содержат 150 мг антитела к IL-23A.

Например, в контексте настоящего изобретения, индуцирующие дозы вводят пациенту в неделю 0, неделю 4 и неделю 8, затем вводят первую поддерживающую дозу в неделю 12, вторую поддерживающую дозу в неделю 20, третью поддерживающую дозу в неделю 28 и т.д. с интервалами дозирования 8 недель между поддерживающими дозами. В одном аспекте, индуцирующие дозы содержат 200 мг, 450 мг, 600 мг, 900 мг или 1200 мг антитела к IL-23A. В одном аспекте, поддерживающие дозы содержат 150 мг, 225 мг или 300 мг антитела к IL-23A.

Например, в контексте настоящего изобретения, индуцирующие дозы вводят пациенту в неделю 0, неделю 4 и неделю 8, затем вводят первую поддерживающую дозу в неделю 12, вторую поддерживающую дозу в неделю 24, третью поддерживающую дозу в неделю 36 и т.д. с интервалами дозирования 12 недель между поддерживающими дозами. В одном аспекте, индуцирующие дозы содержат 200 мг, 450 мг, 600 мг, 900 мг или 1200 мг антитела к IL-23A. В одном аспекте, поддерживающие дозы содержат 225 мг или 300 мг антитела к IL-23A.

В одном варианте осуществления, в способе согласно настоящему изобретению, пациента оценивают относительно полной ремиссии, например, определяемой как достижение клинической ремиссии (CDAI показатель < 150) и эндоскопической ремиссии (CDEIS ≤4). В одном аспекте, для пациента с на-

чальным изолированным илеитом эндоскопическая ремиссия определяется по CDEIS  $\leq 2$ . В одном аспекте, оценивают PRO ответ пациента, например, определяемый либо по PRO-2 показателю  $< 8$  или уменьшению относительно исходных данных по меньшей мере на 8 баллов (PRO-2: исход, сообщаемый пациентом-2).

В одном варианте осуществления, в способе согласно настоящему изобретению, пациента оценивают относительно клинической ремиссии, клинического улучшения, эндоскопической ремиссии, эндоскопического ответа или заживления слизистой оболочки, например, как описано в настоящей заявке,

В одном варианте осуществления, антитело к IL-23A в любом из вышеописанных способов представляет собой антитело, описанное в настоящей заявке. В одном варианте осуществления, антитело к IL-23A в любом из вышеописанных способов представляет собой антитело А. В одном варианте осуществления, антитело к IL-23A в любом из вышеописанных способов представляет собой антитело В. В одном варианте осуществления, антитело к IL-23A в любом из вышеописанных способов представляет собой антитело С. В одном варианте осуществления, антитело к IL-23A в любом из вышеописанных способов представляет собой антитело D.

В одном аспекте, в любом из вышеописанных способов, фармацевтическую композицию, которая включает антитело к IL-23A, вводят пациенту. В одном аспекте, препарат 2, описанный в примере 2, который включает антитело к IL-23A, например, антитело А, антитело В, антитело С или антитело D, вводят пациенту. В одном аспекте, препарат 3, описанный в примере 2, который включает антитело к IL-23A, например, антитело А, антитело В, антитело С или антитело D, вводят пациенту. В одном аспекте, препарат 1, описанный в примере 2, который включает антитело к IL-23A, например, антитело А, антитело В, антитело С или антитело D, вводят пациенту.

В одном аспекте, антитело к IL-23A представляет собой гуманизованное антитело. В одном аспекте, антитело к IL-23A представляет собой моноклональное антитело. В одном аспекте, антитело к IL-23A представляет собой полноразмерное антитело. В одном аспекте, антитело к IL-23A представляет собой гуманизованное моноклональное антитело, например, полноразмерное гуманизованное моноклональное антитело.

Антитело, описанное в настоящей заявке, распознает специфический "IL-23A антиген эпитоп" или "IL-23A эпитоп". Как используется в настоящей заявке, эти термины относятся к молекуле (например, пептиду) или фрагменту молекулы, способной (му) иммунологически реагировать с антителом к IL-23A и, например, включает IL-23A антигенную детерминанту, распознающую любое из антител, имеющих комбинацию последовательность легкая цепь/тяжелая цепь SEQ ID NO: 11/14, 11/15, 10/14 или 10/15.

Обобщенная структура антитела или иммуноглобулина хорошо известна квалифицированным специалистам в данной области техники. Эти молекулы представляют собой гетеротетрамерные гликопротеины, типично с молекулярной массой 150 кДа, состоящие из двух идентичных легких (L) цепей и двух идентичных тяжелых (H) цепей и типично обозначаются как полноразмерные антитела. Каждая легкая цепь ковалентно связана с тяжелой цепью с помощью одной дисульфидной связи с образованием гетеродимера, и гетеротетрамерная молекула образуется посредством ковалентной дисульфидной связи между двумя идентичными тяжелыми цепями гетеродимеров. Несмотря на то, что легкие и тяжелые цепи связаны между собой одной дисульфидной связью, количество дисульфидных связей между двумя тяжелыми цепями изменяется в зависимости от типа иммуноглобулина. Каждая тяжелая и легкая цепь также регулярно разделяется внутрицепочечными дисульфидными мостиками. Каждая тяжелая цепь имеет на аминоконце варибельный домен ( $V_H$ ), с последующими тремя или четырьмя константными доменами ( $C_{H1}$ ,  $C_{H2}$ ,  $C_{H3}$  и  $C_{H4}$ ), а также шарнирную область между  $C_{H1}$  и  $C_{H2}$ . Каждая легкая цепь имеет два домена, аминоконцевой варибельный домен ( $V_L$ ) и карбоксиконцевой константный домен ( $C_L$ ).  $V_L$  домен связан нековалентно с  $V_H$  доменом, в то время как  $C_L$  домен обычно ковалентно связан с  $C_{H1}$  доменом с помощью дисульфидной связи. Полагают, что предпочтительные аминокислотные остатки образуют поверхность контакте между варибельными доменами легкой и тяжелой цепи (Chothia и др., 1985, J. Mol. Biol. 186:651-663). Варибельные домены в настоящем изобретении также обозначаются как варибельный участки.

Определенные домены в пределах варибельных доменов в значительной степени отличаются между различными антителами, то есть являются "гиперварибельными". Эти гиперварибельные домены содержат остатки, которые непосредственно вовлечены в связывание и специфичность каждого конкретного антитела для его специфической антигенной детерминанты. Гиперварибельность, в варибельных доменах как в легкой цепи, так и в тяжелой цепи, сконцентрирована в трех сегментах, известных как участки, определяющие комплементарность (CDR) или гиперварибельные петли (HVL). CDR определяются путем сравнения последовательностей по Кабату и др., 1991, в: Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5<sup>th</sup> Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md., в то время как HVL (также в настоящей заявке обозначаются как CDR) структурно определяются в соответствии с трехмерной структурной варибельного домена, как описано Chothia и Lesk, 1987, J. Mol. Biol. 196: 901-917. Эти два метода приводят к незначительно отличающейся идентификации CDR. Как определено по Кабату, CDR-L1 расположен приблизительно на остатках 24-34, CDR-L2, приблизительно на остатках 50-56, и CDR-L3, приблизительно на остатках 89-97 в варибельном домене легкой цепи; CDR-H1 расположен прибли-

зительно на остатках 31-35, CDR-H2 приблизительно на остатках 50-65, и CDR-H3 приблизительно на остатках 95-102 в переменном домене тяжелой цепи. Точное количество остатков, которые охватывает конкретный CDR, будет значительно зависеть от последовательности и размера CDR. Квалифицированные специалисты в данной области техники могут с помощью общепринятых методов определять, какой остаток содержит конкретный CDR данной аминокислотной последовательности переменного участка антитела. Следовательно, CDR1, CDR2, CDR3 тяжелых и легких цепей определяют уникальные и функциональные свойства, специфические для данного антитела. Три CDR в пределах каждой из тяжелых и легких цепей разделяются каркасными областями (FR), которые содержат последовательности, обладающие меньшей вариабельностью. От аминоконца до карбоксиконца переменных доменов тяжелой и легкой цепи, FR и CDR расположены в таком порядке: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, и FR4. Главным образом  $\beta$ -складчатая конфигурация FR приводит CDR в пределах каждой из цепей в непосредственную близость друг с другом, а также с CDR из другой цепи. Полученная конформация вносит вклад в антиген-связывающий сайт (см. Kabat и др., 1991, NIH Publ. No. 91-3242, том I, с. 647-669), хотя не все CDR остатки обязательно непосредственно вовлечены в связывание антигена. FR остатки и Ig константные домены непосредственно не вовлечены в связывание антигена, но способствуют связыванию антигена и/или опосредуют эффекторные функции антитела. Полагают, что некоторые FR остатки имеют существенное влияние на связывание антигена по меньшей мере тремя путями: путем нековалентного связывания непосредственно с эпитопом, путем взаимодействия с одним или несколькими CDR остатками, и путем влияния на область контакта между тяжелой и легкой цепями. Константные домены непосредственно не вовлечены в связывание антигена, но опосредуют различные эффекторные функции Ig, такие как участие антитела в антителозависимой клеточной цитотоксичности (ADCC), комплементзависимой цитотоксичности (CDC) и антителозависимом клеточном фагоцитозе (ADCP).

Легкие цепи иммуноглобулинов позвоночных принадлежат к одному из двух четко отличающихся классов, каппа ( $\kappa$ ) и лямбда ( $\lambda$ ), на основании аминокислотной последовательности константного домена. Путем сравнения, тяжелые цепи иммуноглобулинов млекопитающих принадлежат к одному из пяти основных классов, в соответствии с последовательностью константных доменов: IgA, IgD, IgE, IgG, и IgM. IgG и IgA дополнительно подразделяются на подклассы (изотипы), например, IgG<sub>1</sub>, IgG<sub>2</sub>, IgG<sub>3</sub>, IgG<sub>4</sub>, IgA<sub>1</sub>, и IgA<sub>2</sub>. Константные домены тяжелой цепи, которые соответствуют различным классам иммуноглобулинов, обозначаются  $\alpha$ ,  $\delta$ ,  $\epsilon$ ,  $\gamma$ , и  $\mu$ , соответственно. Структура субъединиц и трехмерные конфигурации классов нативных иммуноглобулинов хорошо известны.

Термины, "антитело", "антитело к IL-23A", "антитело к IL-23p19", "гуманизированное антитело к IL-23A", "гуманизированное антитело к IL-23p19", "эпитоп гуманизированного антитела к IL-23A", "эпитоп гуманизированного антитела к IL-2319", "вариант эпитопа гуманизированного антитела к IL-23A" и "вариант эпитопа гуманизированного антитела к IL-23p19" специфически охватывают моноклональные антитела (включая полноразмерные моноклональные антитела), поликлональные антитела, и фрагменты антител, такие как переменные домены и другие части антител, которые проявляют желательную биологическую активность, например, IL-23A связывание. Термин "моноклональное антитело" (mAb) относится к антителу, которое чрезвычайно специфически, направлено против одной антигенной детерминанты, "эпитопа". Таким образом, модификатор "моноклонального" является индикаторами нацеливания антител на идентичный эпитоп и не должны рассматриваться как требующие продукции антитела каким-либо конкретным способом. Подразумевается, что моноклональные антитела могут быть получены с помощью любых техник или методик, известных в данной области техники; включая, например, метод гибридом (Kohler и др., 1975, Nature 256:495), или методы рекомбинантных ДНК, известные в данной области техники (см., например, патент США №4,816,567), или способы выделения моноклональных рекомбинантно полученных, используя фаговые библиотеки антител, с помощью технологий, описанных в Clackson и др., 1991, Nature 352: 624-628, и Marks и др., 1991, J. Mol. Biol. 222: 581-597.

Термин "мономер" относится к гомогенной форме антитела. Например, для полноразмерного антитела, мономер обозначает мономерное антитело, имеющее две идентичные тяжелые цепи и две идентичные легкие цепи.

Химерные антитела состоят из переменных областей тяжелых и легких цепей антитела из одного вида (например, млекопитающего, отличающегося от человека, такого как мышь) и константных областей тяжелой и легкой цепи других видов (например, человека) антитела и могут быть получены путем связывания последовательностей ДНК, кодирующих переменные области антитела из первого вида (например, мыши) с последовательностями ДНК для константных областей антитела со второго вида (например, человека) и трансформации хозяина с помощью экспрессионного вектора, содержащего связанные последовательности, что предоставляет возможность продуцировать химерное антитело. Альтернативно, химерное антитело также может представлять собой антитело, в котором один или несколько участков или доменов тяжелой и/или легкой цепи являются идентичными с, гомологичными  $\kappa$ , или вариантом соответствующей последовательности в моноклональном антителе из иммуноглобулина другого класса или изотипа, или из консесусной последовательности или последовательности зародышевой линии. Химерное антитело может включать фрагменты таких антител, при условии, что фрагменты антител

проявляют желательную биологическую активность его исходного антитела, например, связывание с тем же самым эпитопом (см., например, патент США 4816567; и Morrison и др., 1984, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 81: 6851-6855).

Термины, "фрагмент антитела", "фрагмент антитела к IL-23A", "фрагмент эпитопа антитела к IL-23A", "фрагмент гуманизированного антитела к IL-23A", "фрагмент эпитопа гуманизированного антитела к IL-23A", "фрагмент варианта эпитопа гуманизированного антитела к IL-23A" относится к части полноразмерного антитела к IL-23A, в которой сохраняется переменный участок или функциональная способность, например, специфическое связывание эпитопа IL-23A. Примеры фрагментов антитела включают, но не ограничиваясь только ими, Fab, Fab', F(ab')<sub>2</sub>, Fd, Fv, scFv и scFv-Fc фрагмент. Полноразмерные антитела можно обрабатывать с помощью ферментов, таких как папаин или пепсин для получения пригодных фрагментов антител. Расщепление папаином используют для получения двух идентичных антиген-связывающих фрагментов антител, называемых "Fab" фрагментами, каждый из которых с единственным антиген-связывающим сайтом, и оставшийся "Fc" фрагмент. Fab фрагмент также содержит константный домен легкой цепи и C<sub>H1</sub> домен тяжелой цепи. Обработка пепсином приводит к получению F(ab')<sub>2</sub> фрагмента, который имеет два антиген-связывающих сайта и все еще способен перекрестно связывать антиген.

Fab' фрагменты отличаются от Fab фрагментов присутствием дополнительных остатков, включая один или несколько цистеинов из шарнирной области антитела на C-конце C<sub>H1</sub> домена. F(ab')<sub>2</sub> фрагменты антител представляют собой пары Fab' фрагментов, связанные цистеиновыми остатками в шарнирной области. Также известны. Также известны другие химические соединения фрагментов антител.

"Fv" фрагмент содержит полный распознающий антиген и связывающий сайт, состоящий из димера переменного домена одной тяжелой и одной легкой цепи в тесной, нековалентной ассоциации. В этой конфигурации, три CDR каждого переменного домена взаимодействуют, определяя антиген-связывающий сайт на поверхности V<sub>H</sub>-V<sub>L</sub> димера. Все вместе, шесть CDR придают антиген-связывающую специфичность антителу.

"Одноцепочечный Fv" или "scFv" фрагмент антитела представляет собой одноцепочечный Fv вариант, содержащий вариант, содержащий V<sub>H</sub> и V<sub>L</sub> домены антитела, где домены присутствуют в одной полипептидной цепи. Одноцепочечный Fv способен распознавать и связывать антиген. scFv полипептид может необязательно также содержать полипептидный линкер, расположенный между V<sub>H</sub> и V<sub>L</sub> доменами для облегчения образования желательной трехмерной структуры для связывания антигена с помощью scFv (см., например, Pluckthun, 1994, В The Pharmacology of monoclonal Antibodies, том 113, Rosenberg и Moore ред., Springer-Verlag, New York, с. 269-315). "Гуманизированное антитело" или "фрагмент гуманизированного антитела" является специфическим типом химерного антитела, которое включает вариант аминокислотной последовательности иммуноглобулина, или ее фрагмент, который способен связывать заранее определенный антиген и который включает один или несколько FR, имеющих по существу аминокислотную последовательность иммуноглобулина человека и одну или несколько CDR, имеющих по существу аминокислотную последовательность нечеловеческого иммуноглобулина. Эта нечеловеческая аминокислотная последовательность, часто обозначаемая как "импортированная" последовательность, типично заимствует от "импортированного" домена антитела, в особенности переменного домена. В целом, гуманизированное антитело включает по меньшей мере CDR или HVL нечеловеческого антитела, инсертированного между FR переменных доменов тяжелой или легкой цепи человека. Настоящее изобретение описывает специфические гуманизированные антитела к IL-23A, которые содержат CDR, имеющие происхождения из мышиных моноклональных антител или гуманизированные CDR, представленные в табл. 1 и 2, инсертированные между FR переменных доменов последовательности зародышевой линии тяжелой и легкой цепи человека. Подразумевается, что определенные мышиные FR остатки могут быть важными для функционирования гуманизированного антитела и, следовательно, определенные остатки переменных доменов последовательности зародышевой линии тяжелой и легкой цепи модифицированы для того, чтобы быть такими же, как и соответствующая мышиная последовательность.

В другом аспекте, гуманизированное антитело к IL-23A включает по существу все из по меньшей мере одного, и типично двух, переменных доменов (таких как, например, содержащихся в Fab, Fab', F(ab')<sub>2</sub>, Fabc, и Fv фрагментах) в которых все, или по существу все, из CDR, соответствуют таковым нечеловеческого иммуноглобулина, и специфически в настоящей заявке, все из CDR представляют собой мышиные или гуманизированные последовательности, как подробно описано в табл. 1 и 2 в настоящей заявке ниже, и все, или по существу все, из FR представляют собой таковые консенсусной последовательности или последовательности зародышевой линии иммуноглобулина человека. В другом аспекте, гуманизированное антитело к IL-23A также включает по меньшей мере часть Fc иммуноглобулина, типично такие иммуноглобулина человека. Как правило, антитело будет содержать как легкую цепь, так и переменный домен тяжелой цепи. Антитело также может включать один или несколько C<sub>H1</sub>, петлевых, C<sub>H2</sub>, C<sub>H3</sub> и/или C<sub>H4</sub> участков тяжелой цепи, если это является подходящим.

Гуманизированное антитело к IL-23A может быть выбрано из любого класса иммуноглобулинов, включая IgM, IgG, IgD, IgA и IgE, и любого изотипа, включая IgG<sub>1</sub>, IgG<sub>2</sub>, IgG<sub>3</sub>, IgG<sub>4</sub>, IgA<sub>1</sub> и IgA<sub>2</sub>. Например, константный домен может представлять собой фиксирующий компонент константный домен, если

является желательным, чтобы гуманизованное антитело проявляло цитотоксическую активность, и изотип типично представляет собой IgG<sub>1</sub>. Если такая цитотоксическая активность не является желательной, то константный домен может другого изотипа, например, IgG<sub>2</sub>. Альтернативное гуманизованное антитело к IL-23A может содержать последовательности из более чем одного класса или изотипа иммуноглобулина, и выбор предпочтительных константных доменов для оптимизации желательных эффекторных функций является в компетенции квалифицированного специалиста в данной области техники. В специфических вариантах осуществления, настоящее изобретение обеспечивает антитела, которые представляют собой IgG<sub>1</sub> антитела и более предпочтительно, представляют собой IgG<sub>1</sub> антитела, в которых исключены эффекторные функции. FR и CDR, или HVL, гуманизованного антитела к IL-23A не обязательно должны соответствовать точно исходным последовательностям. Например, один или несколько остатков в импортируемом CDR, или HVL, или консенсусная или эмбриональная FR последовательность могут быть изменены (например, мутагенизированы) путем замещения, инсерции или делеции таким образом, что полученные аминокислотные остатки уже больше не идентичны исходному остатку в соответствующем положении в любой исходной последовательности, но, тем не менее, антитело сохраняет функцию связывать IL-23A. Таким изменения обычно не являются обширными и будут консервативными изменениями. Обычно, по меньшей мере 75% остатков гуманизованного антитела будет соответствовать таким остаткам исходных консенсусных или эмбриональных FR и импортированных CDR последовательностей, чаще по меньшей мере 90% и наиболее часто больше чем 95%, или больше чем 98%, или больше чем 99%.

Остатки иммуноглобулина, которые имеют отношение к области взаимодействия переменными областями тяжелой и легкой цепей (" $V_L$ - $V_H$  область контакта") представляют собой те остатки, которые имеют отношение к пространственной близости или ориентации двух цепей по отношению друг к другу. Определенные остатки, которые могут быть вовлечены во внутрицепочечные взаимодействия, включают  $V_L$  остатки 34, 36, 38, 44, 46, 87, 89, 91, 96, и 98 и  $V_H$  остатки 35, 37, 39, 45, 47, 91, 93, 95, 100, и 103 (используя систему нумерации, предложенную Кабат и др., Sequences of Proteins of Immunological Interest (National Institutes of Health, Bethesda, Md., 1987)). В патенте США № 6407213 также обсуждается, что такие остатки, как  $V_L$  остатки 43 и 85, и  $V_H$  остатки 43 и 60, также могут быть вовлечены в это взаимодействие. Несмотря на то, что эти остатки указаны только для IgG человека, они применимы для других видов. Важные остатки антитела, которые обосновано предполагают задействование во внутрицепочечные взаимодействия, выбирают для замещения в консенсусной последовательности.

Термины "консенсусная последовательность" и "консенсусное антитело" относятся к аминокислотной последовательности, которая включает наиболее часто встречающийся аминокислотный остаток в каждой локализации во всех иммуноглобулинах любого конкретного класса, изотипа, или субъединичной структуры, например, переменного домена иммуноглобулина человека. Консенсусная последовательность может основываться на иммуноглобулинах конкретных видов или многих видов. "Консенсусная" последовательность, структура, или антитело охватывает консенсусную последовательность человека, как описано в определенных вариантах осуществления изобретения, и относится к аминокислотной последовательности, которая включает наиболее часто встречающиеся аминокислотные остатки в каждой локализации во всех иммуноглобулинах человека любого конкретного класса, изотипа, или субъединичной структуры. Таким образом, консенсусная последовательность содержит аминокислотную последовательность, имеющую в каждом положении аминокислоту, которая присутствует в одном или нескольких известных иммуноглобулинах, но которая может не точно копироваться в целой аминокислотной последовательности любого единичного иммуноглобулина. Консенсусную последовательность переменного участка не получают из любого продуцируемого в природе антитела или иммуноглобулина. Kabat и др., 1991, Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5<sup>th</sup> Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md., и их вариантов. Консенсусные последовательности FR тяжелой и легкой цепи, и их варианты, обеспечивают пригодные последовательности для получения гуманизованных анти-IL-23p19 антител; см., например, патенты США №№ 6037454 и 6054297. Последовательности зародышевой линии человека были обнаружены в природных условиях в человеческой популяции. Комбинация таких генов зародышевых линий создает разнообразие антител. Последовательности зародышевых линий антител для легкой цепи антитела происходят из консервативных каппа или лямбда  $v$ -генов и  $j$ -генов зародышевых линий человека. Аналогичным образом, последовательности тяжелой цепи происходят из зародышевых линий  $v$ -,  $d$ - и  $j$ -генов (LeFranc, M.-P., и LeFranc, G., "The Immunoglobulin Facts Book" Academic Press, 2001).

Как используется в настоящей заявке, "вариант", "вариант к IL-23A", "гуманизованный вариант к IL-23A", или "вариант гуманизованного к IL-23A" каждый относится к гуманизованному антителу к IL-23A, имеющему по меньшей мере переменную мышиную CDR легкой цепи из любой из последовательностей, как показано в табл. 1, или мышиную CDR последовательность тяжелой цепи, имеющую происхождение из мышиного моноклонального антитела, как показано в табл. 2. Варианты включают такие варианты, которые имеют одно или несколько аминокислотных изменений в одном или обоих переменных доменах легкой цепи или тяжелой цепи, при условии, что аминокислотные изменения не должны оказывать существенного влияния на связывание антитела с IL-23A. Примерные антитела, про-

дуцируемые в настоящей заявке, включают те антитела, которые обозначены как антитело А, антитело В, антитело С и антитело D, и их различные легкие цепи и тяжелые цепи представлены в SEQ ID Nos:18 и 21, и SEQ ID Nos: 19 и 20, соответственно. "Выделенное" антитело представляет собой антитело, которое было идентифицировано и выделено и/или отделено от компонентов его природного окружения. Загрязняющие компоненты природного окружения антитела представляют собой те материалы, которые могут препятствовать диагностическим или терапевтическим применениям антитела, и могут представлять собой ферменты, гормоны, или другие белковоподобные или небелковоподобные растворенные вещества. В одном аспекте, антитело будет очищено на по меньшей мере больше чем 95% выделения по весу антитела. Выделенное антитело включает антитело *in situ* в пределах рекомбинантных клеток, которые его продуцируют, поскольку по меньшей мере один компонент природного окружения антитела не будет присутствовать. Тем не менее, обычно, выделенное антитело будет приготовлено с помощью по меньшей мере одной стадии очистки, при которой рекомбинантный клеточный материал удаляют. Термин "производительность антитела" относится к факторам, которые способствуют распознаванию антиген антителом или эффективности антитела *in vivo*. Изменения аминокислотной последовательности антитела могут оказывать влияния на свойства антитела, такие как складчатость, и могут влиять физические факторы, такие как исходная скорость связывания антитела с антигеном ( $k_a$ ), константа диссоциации антитела от антигена ( $k_d$ ), константа аффинности антитела для антигена ( $K_d$ ), конформация антитела, стабильность белка, и время полужизни антитела.

Термин "меченный эпитоп", если используется в настоящей заявке, относится к антител к IL-23A, слитому с "эпитопной меткой". "Эпитопная метка" представляет собой полипептид, имеющий достаточное количество аминокислот для обеспечения эпитопа для продукции антитела, в то же время создано таким образом, что не препятствует желательной активности антитела к IL-23A. Эпитопная метка обычно является достаточно уникальной таким образом, что антитело, сконструированное против эпитопной метки, по существу перекрестно не реагирует с другими эпитопами. Подходящие полипептиды для метки обычно содержат по меньшей мере 6 аминокислотных остатков и, как правило, содержат приблизительно 8-50 аминокислотных остатков, или приблизительно 9-30 остатков. Примеры эпитопных меток и антител, которые связывают эпитоп, включают flu HA меченый полипептид и его антитело 12CA5 (Field и др., 1988 Mol. Cell. Biol. 8: 2159-2165; c-myc tag и 8F9, 3C7, 6E10, G4, B7 и 9E10 антитела к нему (Evan и др., 1985, Mol. Cell. Biol. 5(12):3610-3616; и метку гликопротеина D (gD) вируса простого герпеса и его антитело (Paborsky и др., 1990, Protein Engineering 3(6): 547-553). В определенных вариантах осуществления, эпитопная метка представляет собой "эпитоп связывания рецептора реутилизации". Как используется в настоящей заявке, термин "эпитоп связывания рецептора реутилизации" относится к эпитопу Fc участка IgG молекулы (такому как IgG<sub>1</sub>, IgG<sub>2</sub>, IgG<sub>3</sub>, или IgG<sub>4</sub>), который отвечает за повышение времени полужизни в сыворотке крови IgG молекулы *in vivo*.

Для диагностического, а также для терапевтического мониторинга, антитела согласно изобретению могут быть конъюгированы с меткой, либо с одной меткой или меткой и дополнительным вторым агентом (пролекарством, химиотерапевтическим агентом и другими). Метка, которая отличается от других вторых агентов, относится к агенту, который представляет собой обнаруживаемое соединение или композицию и она может конъюгировать непосредственно или опосредованно с антителом согласно настоящему изобретению. Метка сама может быть обнаруживаемой (например, радиоизотопные метки или флуоресцентные метки) или, в случае ферментативной метки, может катализировать химическое изменение субстратного соединения или композиция, которая является обнаруживаемой. Меченное антитело к IL-23A может быть приготовлено и использовать для различных показаний, включая диагностики *in vitro* и *in vivo*.

В различных аспектах настоящего изобретения один или несколько домены антител рекомбинантно экспрессируются. Такая рекомбинантная экспрессия может использовать одну или несколько контрольных последовательностей, то есть полинуклеотидных последовательностей, необходимых для экспрессии функционально связанной кодирующей последовательности в предпочтительном организме-хозяине. Контролирующие последовательности, подходящие для применения в прокариотических клетках, включают, например, промотор, оператор, и последовательности связывания сайта рибосомы. Эукариотические контролирующие последовательности включают, но не ограничиваясь только ими, промоторы, сигналы полиаденилирования и энхансеры. Эти контролирующие последовательности можно использовать для экспрессии и продукции антител к IL-23A в прокариотических и эукариотических клетках-хозяевах.

Нуклеотидная последовательность "функционально связана", если она помещена в функциональную зависимость с другой нуклеотидной последовательностью. Например, нуклеотидная предпоследовательность или секреторная лидерная последовательность функционально связана с нуклеиновой кислотой, кодирующей полипептид, если он экспрессируется в виде белка-предшественника, который принимает участие в секреции полипептида; промотор или энхансер функционально связан с кодирующей последовательностью, если он оказывает влияние на транскрипцию последовательности; или участок связывания рибосомы функционально связан с кодирующей последовательностью, если он расположен таким образом, что он облегчает трансляцию. В целом, "функционально связана" обозначает, что последовательности ДНК связаны непрерывно, и, в случае секреторной лидерной последовательности, непре-

ривно и в рамке считывания. Тем не мен, энхансеры необязательно являются непрерывными. Связывание может осуществлять путем лигирования в удобных сайтах рестрикции. Если таких сайтов не существует, то можно использовать синтетические олигонуклеотидные адаптеры или линкеры.

Как используется в настоящей заявке, выражения "клетка", "клеточная линия", и "культура клеток" используются взаимозаменяемо и все такие обозначения включают их потомство. Таким образом, "трансформанты" и "трансформированные клетки" включают первичную используемую клетку и культуры, имеющие происхождение из нее независимо от количества переносов. Термин "млекопитающий" для целей лечения относится к любому животному, классифицированному как млекопитающее, включая людей, одомашненных и сельскохозяйственных животных, и зоопарковых животных, спортивных животных, или домашних животных, таких как собаки, лошади, кошки, коровы и другие. Предпочтительно, животное представляет собой человека. "Нарушение", как используется в настоящей заявке, представляет собой любое состояние, которое благоприятно будет влиять лечение с применением антитела к IL-23A, описанного в настоящей заявке. Оно включает хронические и острые нарушения или заболевания, включая те патологические состояния, которым предрасполагают млекопитающему к данному нарушению.

Как используется в настоящей заявке, термин "IL-23-связанное нарушение" или "IL-23-связанное заболевание", относится к состоянию, при котором IL-23 активность способствует заболеванию и типично, где IL-23 экспрессируется атипично. IL-23-связанное нарушение включает заболевания и нарушения иммунной системы, такие как аутоиммунные нарушения и воспалительные заболевания. Такие состояния включают псориаз, воспалительное заболевание кишечника, например, язвенный колит или болезнь Крона, и спондилоартрит, например, анкилозирующий спондилит, не-радиографический аксиальный спондилоартрит, периферический спондилоартрит или псориатический артрит. Термин "внутривенная инфузия" относится к введению агента в вену животному или пациенту-человеку в течение периода времени больше чем приблизительно 15 мин, обычно в диапазоне приблизительно 30-90 мин.

Термин "внутривенный болюс" или "внутривенно струйно" относится к введению лекарственного средства в вену животного или человека таким образом, что организм получает лекарственное средства приблизительно в течение 15 мин или меньше, в целом 5 мин или меньше.

Термин "подкожное введение" относится к введению агента под кожу животному или пациенту-человеку, предпочтительно в карман между кожей и нижерасположенной тканью, путем относительно медленной, длительной доставки из резервуара лекарственного средства. Прокалывание или оттягивания кожи вверх и от нижерасположенной ткани может создавать карман. Термин "подкожная инфузия" относится к введению лекарственного средства под кожу животному или пациенту-человеку, предпочтительно в карман между кожей и нижерасположенной тканью, путем относительно медленной, длительной доставки из резервуара лекарственного средства в течение периода времени, включающего, но не ограничиваясь только ими, 30 мин или меньше, или 90 мин или меньше. Необязательно, инфузию можно осуществлять путем подкожной имплантации насоса для доставки лекарственного средства, имплантированного под кожу животного или пациента-человека, где насос доставляет заранее установленное количество лекарственного средства в течение заранее установленного периода времени, такого как 30 мин, 90 мин, или периода времени, охватывающий продолжительность протокола лечения. Термин "подкожный болюс" относится к введению лекарственного средства под кожу животному или пациенту-человеку, где болюсная доставка лекарственного средства продолжается меньше чем приблизительно 15 мин; в другом аспекте, меньше чем 5 мин, и в еще другом аспекте, меньше чем 60 с. В еще другом аспекте, введение в карман между кожей и нижерасположенной тканью, где карман может быть создан путем прокалывания или оттягивания кожи вверх и от нижерасположенной ткани.

Термин "терапевтически эффективное количество" используется для обозначения количества активного средства, которое облегчает или ослабевает один или несколько симптомов нарушения, подвергнутого лечению. В другом аспекте, терапевтически эффективное количество относится к целевой концентрации в сыворотке, которая, как было показано, является эффективной, например, для замедления прогрессирования заболевания. Эффективность может быть измерена с помощью общепринятых способов, в зависимости от состояния, подвергнутого лечению.

Термины "лечение" и "терапия" и подобные, как используется в настоящей заявке, включают терапевтические, а также профилактические, или подавляющие меры для заболевания или нарушения, приводящие к любому клинически желательному или благоприятному эффекту, включая, но не ограничиваясь только ими, облегчение или ослабление одного или нескольких симптомов, регрессии, замедления или остановки прогрессирования заболевания или нарушения. Таким образом, например, термин лечение включает введение агента перед или после начала симптома заболевания или нарушения, таким образом предотвращая или удаляя один или несколько признаков заболевания или нарушения. В качестве другого примера, термин включает введение агента после клинического проявления заболевания для борьбы с симптомами заболевания. Дополнительно, введение агента после начала проявления и после клинических симптомов осуществляют, если введение оказывает влияние на клинические параметры заболевания или нарушения, такие как степень поражения ткани или количество или распространение метастаз, не зависимо от того, будет или не будет лечение проводить к ослаблению заболевания, включает "лече-

ние" или "лечить", как используется в настоящей заявке. Кроме того, поскольку композиции в соответствии с изобретением либо отдельно или в комбинации с другим терапевтическим агентом ослабляют или облегчают по меньшей мере один симптом нарушения, подвергнутого лечению, по сравнению с этим симптомом при отсутствии применения композиции антитела к IL-23A, результат должен рассматриваться как эффективное лечение основного нарушения, независимо от того, ослабляются ли все симптомы нарушения или нет.

Термин "листок-вкладыш в упаковке" относится к инструкциям, которые общепринято включаются в коммерческие упаковки терапевтических продуктов, которые содержат информацию относительно показаний, применения, введения, противопоказаний и/или предостережений, относящихся к применению таких терапевтических продуктов.

Таблица 1

## Последовательности CDR легкой цепи

	L-CDR1	L-CDR2	L-CDR3
6B8	KASRDVAIAVA (SEQ ID NO:1)	WASTRHT (SEQ ID NO:2)	HQYSSYPFT (SEQ ID NO:3)

Антитела CDR выбранных антител, используемых в контексте настоящего изобретения, представлены в табл. 1 и 2. Варибельные участки выбранных антител, используемые в контексте настоящего изобретения, представлены в табл. 3 и 4.

Таблица 2

## Последовательности CDR тяжелой цепи

	H-CDR1	H-CDR2	H-CDR3
6B8	GNTFTDQTIH (SEQ ID NO:4)	YIYPRDDSPKYENFKG (SEQ ID NO:5)	PDRSGYAWFIY (SEQ ID NO:6)
Hu 6B8-2	GYTFTDQTIH (SEQ ID NO:7)	YIYPRDDSPKYENFKG (SEQ ID NO:5)	PDRSGYAWFIY (SEQ ID NO:6)
Hu 6B8-5	GFTFTDQTIH (SEQ ID NO:8)	YIYPRDDSPKYENFKG (SEQ ID NO:5)	PDRSGYAWFIY (SEQ ID NO:6)
Hu 6B8-36/65	GGTFTDQTIH (SEQ ID NO:9)	YIYPRDDSPKYENFKG (SEQ ID NO:5)	PDRSGYAWFIY (SEQ ID NO:6)

Таблица 3

## Последовательности гуманизованного 6B8-VK

6B8CVK-65	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKASRDVAIAVAWYQQKPGKVPKLLLFWAS TRHTGVPDRFSGSGSRTDFTLTISLQPEDLADYCHQYSSYPFTFGSGTKL EIK (SEQ ID NO:10)
6B8CVK-66	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKASRDVAIAVAWYQQKPGKVPKLLIYWAS TRHTGVPDRFSGSGSRTDFTLTISLQPEDVADYFCHQYSSYPFTFGSGTKL EIK (SEQ ID NO:11)
6B8CVK-67	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKASRDVAIAVAWYQQKPGKVPKLLLYWAS TRHTGVPDRFSGSGSRTDFTLTISLQPEDVATYCHQYSSYPFTFGSGTKL EIK (SEQ ID NO:12)
6B8CVK-78	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKASRDVAIAVAWYQQKPGKVPKLLLFWAS TRHTGVPDRFSGSGSRTDFTLTISLQPEDLADYCHQYSSYPFTFGSGTKL EIK (SEQ ID NO:13)

Таблица 4

## Последовательность гуманизованного 6B8-VH

6B8CVH-02	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGFTFTDQTIHWVRQAPGQGLEWIGYIY PRDDSPKYENFKGKVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDYAVYYCAIPDRSGY AWFIYWGQGLVTVSS (SEQ ID NO:14)
6B8CVH-05	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGFTFTDQTIHWVRQAPGQGLEWIMGYIY PRDDSPKYENFKGKVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDYAVYYCAIPDRSGY AWFIYWGQGLVTVSS (SEQ ID NO:15)
6B8CVH-36	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFTDQTIHWVRQAPGQGLEWIMGYIY PRDDSPKYENFKGRVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDYAVYYCAIPDRSGY AWFIYWGQGLVTVSS (SEQ ID NO:16)
6B8CVH-65	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFTDQTIHWVRQAPGQGLEWIMGYIY PRDDSPKYENFKGRVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDYAVYFCARPDYSGY AWFIYWGQGLVTVSS (SEQ ID NO:17)

Выбранная комбинация гуманизованных варибельных областей легкой цепи и тяжелой цепи, имеющих происхождение из мышиного антитела 6B8, приводит к получению антител А, В, С и D:

антитело А: 6B8-IgG1KO-2 с IgK-66 (вариабельная область тяжелой цепи 6B8CVH-02 и вариабельная область легкой цепи 6B8CVK-66);

антитело В: 6B8-IgG1KO-5 с IgK-66 (вариабельная область тяжелой цепи 6B8CVH-05 и вариабельная область легкой цепи 6B8CVK-66);

антитело С: 6B8-IgG1KO-2 с IgK-65 (вариабельная область тяжелой цепи 6B8CVH-02 и вариабельная область легкой цепи 6B8CVK-65);

антитело D: 6B8-IgG1KO-5 с IgK-65 (вариабельная область тяжелой цепи 6B8CVH-05 и вариабельная область легкой цепи 6B8CVK-65).

антитела А, В, С и D имеют последовательности тяжелой и легкой цепи, представленные в табл. 5.

Таблица 5

## ДНК и аминокислотные последовательности тяжелой и легкой цепи для антител А, В, С, и D

<b>Антитело А</b>	Легкая цепь IgK #66	<u>DIQMTQSPSSLSASVGD</u> <u>RVTI</u> <u>TCKASRDVAIAVAWYQQKPGKVPKLLIYWASTRHTGVP</u> <u>SRFSGSGSRTDFTLTI</u> <u>SSLQPEDVADYFCHQYSY</u> <u>PF</u> <u>TFGSGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASV</u> <u>VCLLNNFYP</u> <u>P</u> <u>REAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSK</u> <u>DSTYSL</u> <u>SSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC</u> (SEQ ID NO:18)
	Тяжелая цепь IgG1 KO #2	<u>QVQLVQSGAEVKKPGSSVKV</u> <u>SCKASGYTFTDQTIHWMRQAPGQGLEW</u> <u>IGYIYPRDDSPKYNENFKGKVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDTA</u> <u>VYYCAIPDRSGYAWFIYWGQGT</u> <u>LVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGG</u> <u>T</u> <u>AALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTS</u> <u>GVHTFPAVLQSSGLYSLSSV</u> <u>TV</u> <u>PSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDK</u> <u>RVEPKSCDKTHTCP</u> <u>PCP</u> <u>AP</u> <u>EAAGGPSVFLFPPKPKDTLMI</u> <u>SRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDG</u> <u>VEVHNAKTKPREEQYNSTYR</u> <u>VVSVLTVLHQD</u> <u>WLN</u> <u>KEYKCKVSNKALPAPIEKTI</u> <u>SKAKGQPREPQVY</u> <u>TLPPSREEMTKNQVSLTCLV</u> <u>KGFYP</u> <u>SDIAVEWESNGQPENNYK</u> <u>TPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ</u> <u>QGNVFSCSV</u> <u>MHEALHNHYTQKSLSLSPG</u> (SEQ ID NO:19)
<b>Антитело В</b>	Легкая цепь IgK #66	(SEQ ID NO:18)
	Тяжелая цепь IgG1KO #5	<u>QVQLVQSGAEVKKPGSSVKV</u> <u>SCKASGF</u> <u>TFTDQTIHWMRQAPGQGLEW</u> <u>MGYIYPRDDSPKYNENFKGKVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDTA</u> <u>VYYCAIPDRSGYAWFIYWGQGT</u> <u>LVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGG</u> <u>T</u> <u>AALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTS</u> <u>GVHTFPAVLQSSGLYSLSSV</u> <u>TV</u> <u>PSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDK</u> <u>RVEPKSCDKTHTCP</u> <u>PCP</u> <u>AP</u> <u>EAAGGPSVFLFPPKPKDTLMI</u> <u>SRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDG</u> <u>VEVHNAKTKPREEQYNSTYR</u> <u>VVSVLTVLHQD</u> <u>WLN</u> <u>KEYKCKVSNKALPAPIEKTI</u> <u>SKAKGQPREPQVY</u> <u>TLPPSREEMTKNQVSLTCLV</u> <u>KGFYP</u> <u>SDIAVEWESNGQPENNYK</u> <u>TPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ</u> <u>QGNVFSCSV</u> <u>MHEALHNHYTQKSLSLSPG</u> (SEQ ID NO:20)
<b>Антитело С</b>	Легкая цепь IgK #65	<u>DIQMTQSPSSLSASVGD</u> <u>RVTI</u> <u>TCKASRDVAIAVAWYQQKPGKVPKLLFWASTRHTGVP</u> <u>PDRFSGSGSRTDFTLTI</u> <u>SSLQPEDLADYFCHQYSY</u> <u>PF</u> <u>TFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASV</u> <u>VCLLNNFYP</u> <u>P</u> <u>REAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSK</u> <u>DSTYSL</u> <u>SSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC</u> (SEQ ID NO:21)
	Тяжелая цепь IgG1KO #2	(SEQ ID NO:19)
<b>Антитело D</b>	Легкая цепь IgK #65	(SEQ ID NO:21)
	Тяжелая цепь IgG1KO #5	(SEQ ID NO:20)

Вариабельные области легких цепей и тяжелых цепей Антител А, В, С, и D подчеркнуты в табл. 5 выше.

В одном варианте осуществления, антитело к IL-23A включает последовательность легкой цепи, представленной в SEQ ID NO: 18, и последовательности тяжелой цепи, представленной в SEQ ID NO: 19.

В одном варианте осуществления, антитело к IL-23A включает последовательность легкой цепи, представленной в SEQ ID NO: 18, и последовательности тяжелой цепи, представленной в SEQ ID NO: 20. В одном варианте осуществления, антитело к IL-23A включает последовательность легкой цепи, представленной в SEQ ID NO: 21, и последовательности тяжелой цепи, представленной в SEQ ID NO: 19. В одном варианте осуществления, антитело к IL-23A включает последовательность легкой цепи, представленной в SEQ ID NO: 21, и последовательности тяжелой цепи, представленной в SEQ ID NO: 20. В одном варианте осуществления, антитело к IL-23A состоит из последовательности легкой цепи, представленной в SEQ ID NO: 18 и последовательности тяжелой цепи, представленной в SEQ ID NO: 19. В одном варианте осуществления, антитело к IL-23A состоит из последовательности легкой цепи, представленной в SEQ ID NO: 18, и последовательности тяжелой цепи, представленной в SEQ ID NO: 20. В одном варианте осуществления, антитело к IL-23A состоит из последовательности легкой цепи, представленной в SEQ ID NO: 21, и последовательности тяжелой цепи, представленной в SEQ ID NO: 19. В одном варианте осуществления, антитело к IL-23A состоит из последовательности легкой цепи, представленной в SEQ ID NO: 21, и последовательности тяжелой цепи, представленной в SEQ ID NO: 20. В дальнейшем варианте осуществления, антитело к IL-23A связывается с IL-23A человека на эпитопе, состоящем из аминокислотных остатков 108 - 126 и аминокислотных остатков 137 - 151 из SEQ ID NO: 22.

В дальнейшем варианте осуществления, антитело к IL-23A конкурентно связывается с IL-23A человека с антителом согласно настоящему изобретению, например, антителом А, антителом В, антителом С или антителом D, описанным в настоящей заявке. Способность антитела конкурентно связываться с IL-23A может быть измерена, используя исследование конкурентного связывания, известное в денной области техники.

В некоторых вариантах осуществления, антитело к IL-23A включает последовательности вариативной области легкой цепи, имеющие аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 10, 11, 12 или 13. В некоторых вариантах осуществления, антитело к IL-23A включает последовательности вариативной области тяжелой цепи, имеющие аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 14, 15, 16 или 17 (см. табл. 3 и 4 выше). CDR последовательности этих антител представлены в табл. 1 и 2. Например, антитела к IL-23A представляют собой моноклональные антитела с комбинациями вариативных областей легких цепей и вариативных областей тяжелых цепей SEQ ID NO: 11/14, 11/15, 10/14 или 10/15. Такие вариативные области можно комбинировать с константными областями человека.

Полинуклеотиды, векторы, клетки-хозяева и рекомбинантные методы.

Другие варианты осуществления охватывают выделенные полинуклеотиды, которые включают последовательность, кодирующую антитело к IL-23A, векторы, и клетки-хозяева, содержащие полинуклеотиды, и рекомбинантные методики для получения гуманизированного антитела. Выделенные полинуклеотиды могут кодировать любую желательную форму антитела к IL-23A, включая, например, полно-размерные моноклональные антитела, Fab, Fab', F(ab')<sub>2</sub> и Fv фрагменты.

Полинуклеотид(ы), который(е) содержит(ат) последовательность, кодирующую антитело к IL-23A, может(ут) быть сопряжен(ы) с одной или несколькими регуляторными или контролирующими последовательностями, как известно в данной области техники, и могут содержаться в подходящих экспрессионных векторах или клетках-хозяевах, как известно в данной области техники. Каждая из полинуклеотидных молекул, кодирующих вариативные домены тяжелой или легкой цепи, может быть независимо сопряжена с полинуклеотидной последовательностью, кодирующей константный домен, такой как константный домен человека, предоставляющий возможность продуцировать интактные антитела. Альтернативно, полинуклеотиды, или их части, могут быть сопряжены совместно, обеспечивая матрицу для получения одноцепочечного антитела.

Для рекомбинантного получения, полинуклеотид, кодирующий антитело, вставлен в реплицируемый вектор для клонирования (амплификации ДНК) или для экспрессии. Доступны различные подходящие векторы для экспрессии рекомбинантных антител. Компоненты вектора обычно включают, но не ограничиваясь только ими, один или несколько следующих компонентов: сигнальная последовательность, начало репликации, один или несколько маркерных генов, энхансерный элемент, промотор, и последовательность терминации транскрипции.

Антитела к IL-23A также могут быть получены в виде слитых полипептидов, в которых антитело слито с гетерологичным полипептидом, таким как сигнальная последовательность или другой полипептид, имеющий специфический сайт расщепления на аминоконце зрелого белка или полипептида. Гетерологическую сигнальную последовательность типично выбирают из последовательности, которая распознается и процессируется (то есть, расщепляется сигнальной пептидазой) клеткой-хозяином. Для прокариотических клеток-хозяев, которые не распознают и не процессируют сигнальную последовательность антитела к IL-23A, сигнальная последовательность может быть заменена прокариотической сигнальной последовательностью. Сигнальная последовательность может представлять собой, например, щелочная фосфатаза, пенициллиназа, липопротейн, лидерные последовательности термостабильного энтеротоксины II и подобные. Для секреции дрожжами, нативная сигнальная последовательность может быть заменена, например, лидерной последовательностью, полученной из инвертазы альфа-фактора дрожжей (включая

лидерные последовательности  $\alpha$ -факторов *Saccharomyces* и *Kluyveromyces*), кислой фосфатазой, глюкоамилазой *S. albicans* или сигнальной последовательностью, описанной в WO90/13646. В клетках млекопитающих, можно использовать сигнальные последовательности млекопитающих, а также вирусные секреторные лидерные последовательности, например, gD сигнальную последовательность простого герпеса. ДНК для такого участка-прекурсора лигируют в рамке считывания с ДНК, кодирующей антитело к IL-23A.

Экспрессионные и клонирующие векторы содержат нуклеотидную последовательность, которая предоставляет возможность вектору реплицироваться в одной или нескольких выбранных клетках-хозяевах. В целом, в клонирующих векторах эта последовательность представляет собой последовательность, которая предоставляет возможность вектору реплицироваться независимо от хромосомной ДНК хозяева, и включает начала репликации или автономно реплицирующиеся последовательности. Такие последовательности хорошо известны для различных бактерий, дрожжей и вирусов. Начало репликации из плазмиды pBR322 является подходящим для большинства грамм-отрицательных бактерий, начало репликации 2- $\nu$ . Плазмиды являются подходящими для дрожжей, и различные вирусные начала репликации (SV40, полиома, аденовирус, VSV, и BPV) пригодны для клонирующих векторов в клетках млекопитающих. В целом, компонент начала репликации не является необходимым для экспрессионных векторов млекопитающих (начало репликации SV40 типично можно использовать только потому, что он содержит ранний промотор).

Экспрессионные и клонирующие векторы могут содержать ген, который кодирует селективируемый маркер для облегчения идентификации экспрессии. Типичные селективируемые маркерные гены кодируют белки, которые придают резистентность к антибиотикам или другим токсинам, например, ампициллину, неомицину, метотрексату или тетрациклину, или альтернативно, являются компонентами аксотрофных дефицитов, или в других альтернативных вариантах, восполняют специфические питательные вещества, которые не присутствуют в комплексных питательных средах, например, ген, кодирующий D-аланин рацемат для *Bacilli*.

В одном из примеров схемы селекции используется лекарственное средство для остановки роста клетки-хозяина. Те клетки, которые успешно трансформированы гетерологичным геном, продуцируют белок, придающий резистентность к лекарственному средству, и, следовательно, выживают в схеме селекции. Примерами такой доминантной селекции является использование лекарственных средств неомицин, микофеноловая кислота и гиромоцин. Общепринятыми селективируемыми маркерами для клеток млекопитающих являются те, которые предоставляют возможность идентификации клеток, компетентных за принятие нуклеиновой кислоты, кодирующей антитело к IL-23A, такие как DHFR (дигидрофолат-редуктаза), тимидинкиназа, металлотioneин-I и -II (такие как гены металлотioneина приматов), аденозиндеаминаза, орнитиндекарбоксилаза, и другие. Клетки, трансформируемые с помощью DHFR-селективируемого гена, сначала идентифицируют путём культивирования всех трансформантов в культуральной среде, которая содержит метотрексат (Mtx), конкурентный антагонист DHFR. Применяемая подходящая клетка-хозяин, если используют DHFR дикого типа, представляет собой клеточную линию яичников китайского хомячка (CHO) с дефицитом активности DHFR (например, DG44).

Альтернативно, клетки-хозяева (предпочтительно хозяева дикого типа, которые содержат эндогенный DHFR), трансформированные или ко-трансформированные последовательностями ДНК, кодирующими антитело к IL-23A, белок DHFR дикого типа, и другой селективируемый маркер, такой как аминокликозид 3'-фосфотрансфераза (APH), могут быть селективированы путем роста клеток в среде, содержащей селективируемый агент для селективируемого маркера, такой как аминокликозидный антибиотик, например, канамицин, неомицин, или G418. см., например, патент US 4965199.

Когда рекомбинантное получение осуществляют в дрожжевой клетке в качестве клетки-хозяина, то в качестве селективируемого маркера можно использовать ген TRP1, присутствующий в дрожжевой плазмиде YRp7 (Stinchcomb и др., 1979, Nature 282: 39). Ген TRP1 обеспечивает селекционный маркер для мутантного штамма дрожжей, у которого отсутствует способность расти в триптофане, например, № ATCC 44076 или PER4-1 (Jones, 1977, Genetics 85:12). Впоследствии присутствие *trp1* поражения в геноме дрожжевой клетки-хозяина обеспечивает эффективное окружение для обнаружения трансформации путем роста при отсутствии триптофана. Аналогичным образом, штаммы дрожжей с дефицитом *Leu2p*, такие как ATCC 20,622 и 38,626 дополняются известными плазмидами, несущими ген LEU2.

Дополнительно, векторы, имеющие происхождение из кольцевой плазмиды 1,6 мкм pKD1, можно использовать для трансформации дрожжей *Kluyveromyces*. Альтернативно, была описана экспрессионная система для промышленного получения рекомбинантного телячьего химозина для *K. lactis* (Van den Berg, 1990, Bio/Technology 8:135). Также были описаны стабильные многокопийные экспрессирующие векторы для секреции зрелого рекомбинантного сывороточного альбумина человека с помощью промышленных штаммов *Kluyveromyces* (Fleeg и др., 1991, Bio/Technology 9:968-975).

Экспрессионные и клонирующие векторы обычно содержат промотор, который распознается организмом-хозяином и функционально связан с молекулой нуклеиновой кислоты, кодирующей анти-IL-23p19 антитело или его полипептидную цепь. Промоторы, подходящие для применения с прокариотиче-

скими хозяевами, включают *rhoA* промотор,  $\beta$ -лактамазную и лактозную промоторные системы, щелочную фосфатазу, триптофановую (*trp*) промоторную систему, и гибридные промоторы, такие как *tac* промотор. Подходящими также являются другие известные бактериальные промоторы. Промоторы для применения в бактериальных системах также будут содержать последовательность Шайна-Дальгарно (Shine-Dalgarno, S.D.), функционально связанную с ДНК, кодирующей антитело к IL-23A.

Известны многие эукариотические промоторные последовательности. В действительности, все эукариотические гены имеют АТ-обогащенный участок, расположенный на приблизительно 25-30 пар против хода транскрипции от сайта инициации транскрипции. Другая последовательность, в которой 70-80 оснований против хода транскрипции от старта транскрипции многих генов, представляет собой CNCAAT участок, где N может представлять собой любой нуклеотид. На 3' конце большинства эукариотических генов присутствует AATAAA последовательность, которая может являться сигналом для добавления поли-А хвоста к 3' концу кодирующей последовательности. Все эти последовательности подходяще вставлены в экспрессионные векторы. Примеры подходящих промоторных последовательностей для применения с дрожжами-хозяевами, включают промоторы для 3-фосфоглицерат киназы или других гидролитических ферментов, таких как *енолаза*, *глицеральдегид 3-фосфат дегидрогеназа*, *гексокиназа*, *пируват декарбоксилаза*, *фосфофруктокиназа*, *глюкозо-6-фосфат изомераза*, *3-фосфоглицерат мутаза*, *пируват киназа*, *триозофосфат изомераза*, *фосфоглюкозоизомераза*, и *глюкокиназа*.

Индукцибельные промоторы имеют дополнительные преимущества транскрипции под контролем условий роста. Они включают промоторные участки дрожжей для *алкогольдегидрогеназы 2*, *изоцитохрома C*, *кислой фосфатазы*, *производных ферментов*, связанных с метаболизмом азота, *металлотионеина*, *глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназы*, и ферментов, отвечающих за утилизацию мальтозы и галактозы. Подходящие векторы и промоторы для применения для экспрессии в дрожжах дополнительно описаны в EP 73,657. Дрожжевые энхансеры также благоприятно используются с дрожжевыми промоторами.

Транскрипция антитела к IL-23A из векторов в клетках-хозяевах млекопитающих контролируется, например, промоторами, полученными из геномов вирусов, таких как вирус полиомы, вирус оспы кур, аденовирус (такой как Аденовирус 2), вирус папилломы крупного рогатого скота, вирус саркомы птиц, цитомегаловирус, ретровирус, вирус гепатита В и вирус обезьян 40 (SV40), из гетерологичных промоторов млекопитающих, например, *актиновый промотор* или *иммуноглобулиновый промотор*, или из промоторов теплового шока, при условии, что такие промоторы совместимы с системами клеток-хозяев. Ранние и поздние промоторы вируса SV40 легко получают в виде рестрикционного фрагмента SV40, который также содержит начало репликации вируса SV40. Немедленно-ранний промотор цитомегаловируса человека легко получают в виде рестрикционного фрагмента HindIII E. Система для экспрессии ДНК в млекопитающих-хозяевах, используя вирус папилломы крупного рогатого скота в качестве вектора, описан в патенте US № 4,419,446. Модификация этой системы описана в патенте US № 4601978. См. также Reyes и др., 1982, Nature 297:598-601, где описана экспрессия кДНК п-интерферона человека в мышечных клетках под контролем тимидинкиназного промотора из вируса простого герпеса. Альтернативно, в качестве промотора можно использовать длинный концевой повтор вируса саркомы.

Другим полезным элементом, который может использоваться в рекомбинантном экспрессионном векторе, является энхансерная последовательность, которую используют для усиления транскрипции ДНК, кодирующей антитело к IL-23A, высшими эукариотами. В настоящее время известны много энхансерных последовательностей из генов млекопитающих (например, *глобин*, *эластаза*, *альбумин*, *афетопротейн* и *инсулин*). Тем не менее, типично используют энхансер из вируса эукариотической клетки. Примеры включают SV40 энхансер на поздней стороне начала репликации (по 100-270), энхансер раннего промотора цитомегаловируса, энхансер полиомы на поздней стороне начала репликации и аденовирусные энхансеры. Также см. Yaniv, 1982, Nature 297:17-18 относительно описания энхансерных элементов для активации эукариотических промоторов. Энхансер может быть сплайсирован в вектор в положении 5' или 3' к антителу к IL-23A-кодирующей последовательности, но предпочтительно он расположен на 5' сайте от промотора.

Экспрессионные векторы, используемые в эукариотических клетках-хозяевах (дрожжи, грибы, насекомые, растения, животные, люди или ядросодержащих клетках из других многоклеточных организмов) также могут содержать последовательности, необходимые для терминации транскрипции и для стабилизации мРНК. Такие последовательности являются общедоступными из 5' и, иногда 3', нетранслируемых участков эукариотических или вирусных ДНК или кДНК. Эти участки содержат нуклеотидные сегменты, транскрибируемые в виде полиаденилированных фрагментов в нетранслируемой части мРНК, кодирующей антитело к IL-23A. Одним из пригодных компонентов терминации транскрипции является участок полиаденилирования бычьего гормона роста. См. WO94/11026 и экспрессионный вектор, описанный в этом документе. В некоторых вариантах осуществления, гуманизированное анти-IL-23p19 антитела могут быть экспрессированы, используя CHEF систему. (См., например, патент US № 5888809; содержание которого включено в настоящую заявку в качестве ссылки.)

Подходящие клетки-хозяева для клонирования или экспрессирования ДНК в векторах согласно настоящему изобретению представляют собой клетки прокариот, дрожжей или высших эукариот, описан-

ные выше. Подходящие прокариоты для этой цели включают эубактерии, такие как грамм-отрицательные или грамм-положительные организмы, например, Enterobacteriaceae, такие как Escherichia, например, E. coli, Enterobacter, Erwinia, Klebsiella, Proteus, Salmonella, например, Salmonella typhimurium, Serratia, например, Serratia marcescans, и Shigella, а также s Bacilli, такие как B. subtilis и B. licheniformis (например, B. licheniformis 41 P, раскрытые в DD 266,710, опубликованном 12 апреля 1989 г.), Pseudomonas, такие как P. aeruginosa, и Streptomyces. Одним из предпочтительных хозяев для клонирования E. coli является E. coli 294 (ATCC 31,446), хотя пригодны также другие штаммы, такие как E. coli B, E. coli X1776 (ATCC 31,537), и E. coli W3110 (ATCC 27,325). Эти примеры являются иллюстративными, а не ограничительными.

Дополнительно к прокариотам, эукариотические микроорганизмы, такие как нитчатые грибы или дрожжи являются подходящими хозяевами для клонирования или экспрессирования векторов, кодирующих антитело к IL-23A. Saccharomyces cerevisiae, или общераспространенные хлебопекарные дрожжи наиболее часто используются среди низших эукариотических микроорганизмов-хозяев. Тем не менее, различные другие рода, виды и штаммы являются общедоступными и пригодными в настоящей заявке, такие как Schizosaccharomyces pombe; хозяева Kluyveromyces, такие как, например, K. lactis, K. fragilis (ATCC 12,424), K. bulgaricus (ATCC 16,045), K. wickerhamii (ATCC 24,178), K. waltii (ATCC 56,500), K. drosophilorum (ATCC 36,906), K. thermotolerans, и K. marxianus; yarrowia (EP 402,226); Pichia pastors (EP 183,070); Candida; Trichoderma reesia (EP 244,234); Neurospora crassa; Schwanniomycetes, такие как Schwanniomycetes occidentalis; и нитчатые грибы, такие как, например, Neurospora, Penicillium, Tolypocladium, и хозяева Aspergillus, такие как A. nidulans и A. niger.

Подходящие клетки-хозяева для экспрессии гликозилированного антитела к IL-23A имеют происхождение из многоклеточных организмов. Примеры беспозвоночных клеток включают клетки растений и насекомых, включая, например, различные бакуловирусные штаммы и варианты и соответствующие разрешенные насекомые клетки-хозяева из таких организмов, как Spodoptera frugiperda (гусеница), Aedes aegypti (комар), Aedes albopictus (комар), Drosophila melanogaster (плодовая мушка), и Bombyx mori (шелковичный червь). Общедоступны различные вирусные штаммы для трансфекции, например, L-1 вариант Autographa californica NPV и Bm-5 штамм Bombyx mori NPV, и такие вирусы можно использовать, в особенности, для трансфекции клеток Spodoptera frugiperda.

Также в качестве хозяев могут использоваться культуры растительных клеток хлопчатника, кукурузы, картофеля, сои, пегунии, томата и табака. В другом аспекте, экспрессию антител к IL-23A осуществляют в клетках позвоночных. Размножение клеток позвоночных в культуре (тканевая культура) стало обычной процедурой и техники являются широкодоступными. Примерами пригодных линий клеток-хозяев млекопитающих являются линия почек обезьян CV1, трансформированная с помощью SV40 (COS-7, ATCC CRL 1651), линий почки эмбриона человека (293 или 293 клетки, субклонированные для роста в суспензионной культуре, (Graham и др., 1977, J. Gen Virol. 36: 59), клетки почки новорожденного хомяка (BHK, ATCC CCL 10), клетки яичника китайского хомячка/DHFR1 (CHO, Urlaub и др., 1980, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77: 4216; например, DG44), клетки Сертоли мышей (TM4, Mather, 1980, Biol. Reprod. 23:243-251), клетки почки обезьян (CV1 ATCC CCL 70), клетки почки африканской зеленой обезьяны (VERO-76, ATCC CRL-1587), клетки карциномы шейки матки человека (HELA, ATCC CCL 2), клетки почки собаки (MDCK, ATCC CCL 34), клетки почки крысы линии Buffalo (BRL 3A, ATCC CRL 1442), клетки легких человека (W138, ATCC CCL 75), клетки печени человека (Hep G2, HB 8065), опухоль молочной железы мышей (MMT 060562, ATCC CCL51), TR1 клетки (Mather и др., 1982, Annals N.Y. Acad. Sci. 383: 44-68), MRC 5 клетки, FS4 клетки, и линия гепатомы человека (Hep G2).

Клетки-хозяева трансформируют с помощью вышеописанных экспрессионных или клонирующих векторов для продукции антитела к IL-23A и культивируют в подходящей питательной среде, модифицированной, если это является подходящим, для индуцирования промоторов, отбора трансформантов, или амплификации генов, кодирующих желательные последовательности. Клетки-хозяева, используемые для продуцирования антитела к IL-23A, описанные в настоящей заявке, могут культивироваться в различных питательных средах. Коммерчески доступные среды, такие как Ham's F10 (Sigma-Aldrich Co., St. Louis, Mo.), минимальная питательная среда ((MEM), (Sigma-Aldrich Co.), RPMI-1640 (Sigma-Aldrich Co.), и модифицированная по способу Дульбекко среда Игла ((DMEM), Sigma-Aldrich Co.) являются подходящими для культивирования клеток-хозяев. Дополнительно, любая из сред, описанных в одном или нескольких источниках: Ham и др., 1979, Meth. Enz. 58: 44, Barnes и др., 1980, Anal. Biochem. 102: 255, патент US № 4767704, патент US № 4657866, патент US № 4927762, патент US № 4560655, патент US № 5122469, WO 90/103430, и WO 87/00195, может использоваться в качестве культуральной среды для клеток-хозяев. Любые из этих сред могут быть дополнены, при необходимости, гормонами и/или другими факторами роста (такими как инсулин, трансферрин или фактор роста эпидермиса), солями (такими как хлорид натрия, кальция, магния, и фосфат), буферами (такими как HEPES), нуклеотидами (такими как аденозин и тимидин), антибиотиками (такими как гентамицин), микроэлементами (определяемые как неорганические соединения, обычно присутствующие в конечных концентрациях в микромолярном диапазоне), и глюкозой или эквивалентным источником энергии. Другие добавки также можно включать в подходящих концентрациях, что является очевидным для квалифицированного специалиста в

данной области техники. Условия культивирования, такие как температура, pH и другие, представляют собой условия, которые ранее использовались для клетки-хозяина, выбранной для экспрессии, и будут понятными квалифицированному специалисту в данной области техники.

При использовании рекомбинантных техник, антитело может продуцироваться внутриклеточно, в периплазматическое пространство, или непосредственно секретироваться в питательную среду. Если антитело продуцируется внутриклеточно, то клетки могут быть разрушены для высвобождения белка в качестве первой стадии. Отходы в виде частичек, либо клетки-хозяева или лизированные фрагменты, могут быть удалены, например, путем центрифугирования или ультрафильтрации. В Carter и др., 1992, *Bio/Technology* 10:163-167 описана процедура для выделения антител, которые секретированы в периплазматическое пространство *E. coli*. Вкратце, клеточную массу размораживают в присутствии ацетата натрия (pH 3,5), EDTA, и фенолметилсульфонилфторид (PMSF) приблизительно в течение 30 мин. Клеточный дебрис может быть удален путем центрифугирования. Если антитело секретировано в питательную среду, то супернатанты с таких экспрессирующих систем в целом сначала концентрируют, используя коммерчески доступный фильтр для концентрации белка, например, ультрафильтрационный блок Amicon или Millipore Pellicon. Ингибитор протеазы, такой как PMSF, может быть включен в любую из вышеуказанных стадий для ингибирования протеолиза и антибиотика могут быть включены для предотвращения роста случайных загрязнителей. Для выделения антитела из клетки-хозяина можно использовать различные методы.

Композиция антитела, приготовленная из клеток, может быть очищена, например, путем хроматографии с гидроксипатитом, гель-электрофореза, диализа и афинной хроматографии, где типичной техникой очистки является афинная хроматография. Пригодность белок А в качестве афинного лиганда зависит от видов и изотипа любого домена Fc иммуноглобулина, который присутствует в антителе. Белок А можно использовать для очистки антитела, которые основываются на тяжелых цепях гамма 1, гамма 2, или гамма 4 человека (см., например, Lindmark и др., 1983 *J. Immunol. Meth.* 62:1-13). Белок G рекомендуется для всех мышинных изотипов и для гамма3 человека (см., например, Guss и др., 1986 *EMBO J.* 5:1567-1575). Матрицей, к которой присоединен афинный лиганд, наиболее часто представляет собой агарозу, но доступны также другие матрицы. Механично стабильные матрицы, такие как стекло с заданным размером пор или поли(стиролдвинил)бензол предоставляют возможность более быстрых скоростей потоков и более короткого времени обработки, которого можно достичь с агарозой. Если антитело включает C<sub>H3</sub> домен, то смола Bakerbond ABX™ (J.T. Baker, Phillipsburg, N.J.) является подходящей для очистки. Также доступны другие технологии для очистки белков, такие как фракционирование на ионо-обменной колонке, осаждение с этанолом, ВЭЖХ с обращенной фазой, хроматография на диоксиде кремния, хроматография на гепарин SEPHAROSE™ хроматография на анион- или катион-обменной смоле (такой как колонка с полиаспарагиновой кислотой), хроматофокусирование, SDS-PAGE, и осаждение с сульфатом аммония, в зависимости от восстанавливаемого антитела.

После любой(ых) подготовительной(ых) стадии(й) очистки, смесь, содержащую представляющее интерес антитело и загрязнители, можно подвергать хроматографии с гидрофобным взаимодействием при низких pH, используя элюирующий буфер при pH в диапазоне 2,5-4,5, типично осуществляют при низких концентрациях соли (например, от приблизительно 0-0,25 М соли).

Терапевтические применения.

В другом варианте осуществления, антитело к IL-23A, описанное в настоящей заявке, пригодно для лечения различных нарушений, связанных с экспрессией IL-23p19, как описано в настоящей заявке. В одном аспекте, способ лечения нарушения, связанного с IL-23, включает введение терапевтически эффективного количества антитела к IL-23A субъекту, который в этом нуждается.

Антитело к IL-23A вводят любым подходящим путем, включая парентеральное, подкожное, внутрибрюшинное, внутрилегочное, и интраназальное, и, если это является желательным для местного иммуносупрессивного лечения, внутриочаговое введение (включая перфузирование или другим образом контактирование трансплантата с антителом перед трансплантацией). Антитело к IL-23A или агент можно вводить, например, в виде инфузии или болюса. Парентеральные инфузии включают внутримышечное, внутривенное, внутриартериальное, внутрибрюшинное, или подкожное введение.

Дополнительно, антитело к IL-23A подходяще вводят путем пульсирующей инфузии, в особенности со снижающими дозами антитела. В одном аспекте, дозирование осуществляют путем инъекций, наиболее предпочтительно внутривенных или подкожных инъекций, в зависимости частично от того, будет ли введение коротким или хроническим. В одном аспекте, дозирование анти-IL-23 антитела осуществляют путем подкожных инъекций.

Для предотвращения или лечения заболевания, подходящая доза антитела будет зависеть от различных факторов, таких как тип заболевания, подвергаемого лечению, как определено выше, тяжести и течения заболевания, вводят ли антитело с профилактической или лечебной целью, предшествующей терапии, истории болезни пациента и ответа на антитело, и решения лечащего врача. Антитело подходяще вводят пациенту в одно время или в виде серий лечений. Термин "супрессия" используется в настоящей заявке в таком же контексте, как и "улучшение" и "облегчение" для обозначения уменьшения одного

или нескольких характерных признаков заболевания.

Антитело приготавливают в виде препарата, дозируют и вводят способом, согласующимся с надлежащей медицинской практикой. Факторы, которые принимают во внимание в этом контексте, включают, в частности, нарушение, подвергнутое лечению, конкретного млекопитающего, подвергнутого лечению, клиническое состояние индивидуального пациента, причину нарушения, участок доставки агента, способ введения, схему введения, и другие факторы, известные практикующим врачам. Для определения "терапевтически эффективного количества" вводимого антитела будут руководствоваться такими соображениями.

Антитело необязательно может быть приготовлено в виде препарата с одним или несколькими агентами, которые в настоящее время используются для предотвращения или лечения данного нарушения. Эффективное количество таких других агентов зависит от количества антитела к IL-23A, присутствующего в препарате, типа нарушения или лечения, и других факторов, обсуждаемых выше.

IL-23-связанные нарушения.

Антитела или агенты к IL-23p19 пригодны для лечения или предотвращения иммунологического нарушения, которое характеризуется аномальной экспрессией IL-23, например, путем ненадлежащей активации иммунных клеток (например, лимфоцитов или дендритных клеток). Такая аномальная экспрессия IL-23 может быть обусловлена, например, повышенными уровнями IL-23 белка. Иммунологические заболевания, которые характеризуются ненадлежащей активацией иммунных клеток и могут подвергаться лечению или профилактика с помощью способов, описанных в настоящей заявке, могут быть классифицированы, например, по типу (типах) реакции(й) гиперчувствительности, которые лежат в основе нарушения. Эти реакции обычно классифицируются на четыре типа: анафилактические реакции, цитотоксические (цитолитические) реакции, реакции иммунных комплексов, или клеточно-опосредованные иммунологические (СМІ) реакции (также обозначаемые как реакции гиперчувствительности замедленного типа (DTH)). (См., например, Fundamental Immunology (William E. Paul ред., Raven Press, N.Y., 3-е изд., 1993). Иммунологические заболевания включают воспалительные заболевания и аутоиммунные заболевания.

Примеры иммунологических заболеваний включают следующие заболевания: псориаз, воспалительное заболевание кишечника, например, язвенный колит или болезнь Крона, и спондилоартрит, например, анкилозирующий спондилит, нерадиографический аксиальный спондилоартрит, периферический спондилоартрит или псориазический артрит.

В одном аспекте, в контексте настоящего изобретения, иммунологическое заболевание представляет собой болезнь Крона, например, среднетяжелой или тяжелой активной болезни Крона. В одном аспекте, в контексте настоящего изобретения, пациент ранее не получал лечения, или ранее получал лечение с применением анти-TNF терапии. В одном аспекте, в контексте способа согласно настоящему изобретению пациент ранее получал лечение с применением одного, двух, трех или более TNF антагонистов. В одном варианте осуществления, пациент представляет собой пациента, который имел неадекватную ответную реакцию с потерей ответной реакции, или был нетолерантным к а TNF антагонист. В одном аспекте, пациент, подвергнувшийся лечению с помощью способа в соответствии с настоящим изобретением, имеет CDAI показатель 220-450.

Тяжесть заболевания для болезни Крона определяют, например, используя индекс активности болезни Крона (CAI). CAI является составным показателем, используемым для количественного определения симптомов у пациентов с болезнью Крона. В одном аспекте, индекс состоит из восьми факторов, которые суммируют после приведения по заранее определенному фактору, имеющему значение (см. ниже в табл. В). CAI показатели находятся в интервале 0-600. Значения индекса 150 и ниже связывают с заболеванием в стадии ремиссии; значения выше 150 связывают с активным заболеванием, и значения выше 450 связывают с чрезвычайно тяжелым течением заболевания.

Таблица В

Формат для расчета CDAI

Клиническая или лабораторная переменная величина	Фактор, имеющий значение
Число жидкого или мягкого стула каждый день в течение 7 дней	×2
Боль в области живота (разделяемым по степеням тяжести 0 - 3) каждый день в течение 7 дней	×5
Общее самочувствие, субъективно оцениваемое от 0 (хорошее) до 4 (ужасное) каждый день в течение 7 дней	×7
Наличие осложнений	×20
Прием ломотила или опиатов при диарее	×30
Наличие объемного образования брюшной полости (0 как отсутствие, 2 как под вопросом, 5 как определенное)	×10
Гематокрит <0,47 у мужчин и <0,42 у женщин	×6
Процент отклонения от стандартного веса	×1

На уровне слизистой оболочки, степень заболевания классифицируют, например, после илеоколоноскопии в соответствии с Эндоскопическим индексом тяжести болезни Крона (CDEIS). В одном аспекте, CDEIS представляет собой утверждённую систему количественных показателей, в которой оценивают шесть эндоскопических переменных величин (наличие глубоких язв, поверхностных язв, неизъязвленный стеноз, изъязвленный стеноз, доля изъязвленной поверхности, и доля поверхности, пораженной заболеванием) в каждом из пяти сегментов: прямая кишка, сигмовидная и нисходящая ободочная кишка, поперечная ободочная кишка, восходящая ободочная кишка и подвздошная кишка. Для этих сегментов, процент изъязвленной поверхности ободочной кишки и процент поверхности, пораженной любым очагом болезни Крона, указывают на 10 см визуальной аналоговой шкале. CDEIS показатели находятся в диапазоне 0-44 и более высокие показатели указывают на более тяжелое заболевание.

Другие шкалы оценки заболевания описаны, например, в примерах, представленных ниже в данной заявке. В одном аспекте, CDAI или CDEIS, или оба, или любую из шкал оценки, описанных в примерах, представленных далее в настоящей заявке, используют для оценки эффективности антитела к IL-23A, например, антитела А, антитела В, антитела С или антитела D, для лечения болезни Крона, например, среднетяжелой или тяжелой активной болезни Крона.

Например, пациента оценивают относительно клинической ремиссии, например, определенной как CDAI показатель < 150.

Например, пациента оценивают относительно клинического улучшения, например, определяемой как либо CDAI показатель < 150 или CDAI уменьшение относительно исходных данных на по меньшей мере 100 баллов.

Например, пациента оценивают относительно эндоскопической ремиссии, например, определяемой как CDEIS ≤4. Для пациентов с начальным изолированным илеитом, эндоскопическую ремиссию определяют, например, как CDEIS ≤2.

Например, пациента оценивают относительно эндоскопического ответа, например, определяемого как уменьшение >50% CDEIS относительно исходных данных.

Например, пациента оценивают относительно полной ремиссии, например, определяемой как достижение клинической ремиссии (CDAI показатель < 150) и/или эндоскопической ремиссии (CDEIS ≤4). В одном аспекте, для пациента с начальным изолированным илеитом эндоскопическая ремиссия определяется по DEIS ≤2. Например, полная ремиссия определяется как достижение клинической ремиссии и эндоскопической ремиссии.

В одном аспекте, исход, сообщаемый пациентом (PRO), для пациента оценивают, например, используя PRO-2 показатель. В одном аспекте, PRO-2 ремиссию оценивают, например, как определено с помощью PRO-2 показателя ≤75. В одном аспекте, PRO-2 ответ оценивают, например, согласно определению, как снижение относительно исходных данных на 50 баллов или больше.

В одном аспекте, PRO-2 включает только два CDAI параметра: частота стула и боль в области живота. В одном аспекте, PRO-2 рассчитывают на основании суммы значимых указанных пациентом субпоказателей CDAI для частоты жидкого или мягкого стула боль в области живота в течение 7 дней перед визитом, предусмотренным исследованием. PRO-2 рассчитывают путем сложения значений суммированных показателей частоты стула, умноженных на 2, плюс суммированные показатели боли в области живота, умноженные на 5. В одном аспекте, качество жизни, обусловленное состоянием здоровья (HRQoL) оценивают путем опроса пациентов для ответа на 32 вопроса Анкеты для оценки воспалительных заболеваний кишечника (IBDQ), которая представляет собой средства для оценки масштаба влияния симптомов, связанных с кишечником, жалоб системного характера, социальных функций и эмоционального состояния на HRQoL, где более высокие показатели указывают на лучшее HRQoL. Среднее изменение на 16 баллов рассматривают как клинически значимое для этого инструмента.

В одном аспекте, в контексте настоящего изобретения, иммунологическое заболевание представляет собой язвенный колит. В одном аспекте, антитело к IL-23A, например, антитело А, антитело В, антитело С или антитело D, используются для лечения пациентов со среднетяжелым или тяжелым активным язвенным колитом, например, пациентов, которые имели неадекватную ответную реакцию с, потерю ответной реакции на, или были нечувствительны на общепринятую терапию или антагонист фактора некроза опухоли-альфа (TNFα). Например, лечение осуществляли путем индуцирования и поддержания клинической ремиссии, путем индуцирования и поддержания клинического улучшения, путем улучшения эндоскопического внешнего вида слизистой оболочки или путем достижения ремиссии без применения кортикостероидов.

Фармацевтические композиции и их введение.

Композицию, содержащую антитело к IL-23A, можно вводить субъекту, имеющему или с риском наличия иммунологического нарушения. Термин "субъект", как используется в настоящей заявке, обозначает любого пациента-млекопитающего, которому может вводиться антитело к IL-23A, включая, например, людей и млекопитающих, отличающихся от людей, таких как приматы, грызуны и собаки. Субъекты, специфически предназначены для лечения, используя способы, описанные в настоящей заявке, включают людей. Антитела могут вводиться либо отдельно или в комбинации с другими компози-

циями для предотвращения или лечения иммунологического нарушения.

Антитела к IL-23A для применения в таких фармацевтических композициях представляют собой антитела, описанные в настоящей заявке, например, антитело А, антитело В, антитело С или антитело D.

Известны различные системы для доставки и они могут использоваться для введения антител к IL-23A. Способы введения включают, но не ограничиваясь только ими, внутрикожный, внутримышечный, внутрибрюшинный, внутривенный, подкожный, интраназальный, эпидуральный и пероральный пути. Антитело к IL-23A может вводиться, например, путем инфузии, болюса или инъекции, и может вводиться совместно с другими биологически активными агентами, такими как химиотерапевтические агенты. Введение может быть системным или местным. В одном варианте осуществления, введение осуществляется путем подкожной инъекции. Препараты для таких инъекций могут быть приготовлены, например, в заранее заполненных шприцах, таким образом, что они могут вводиться один раз в две недели.

В специфических вариантах осуществления, антитело к IL-23A вводят путем инъекции, с помощью катетера, с помощью суппозитория, или с помощью импланта, имплант представляет собой пористый, непористый или желатинообразный материал, включая мембрану, такую как sialastic мембрана, или волокно. Типично, при введении композиции, используют материалы, к которым не адсорбируется антитело к IL-23A или агент.

В других вариантах осуществления, антитело к IL-23A доставляется с помощью системы с контролируемым высвобождением. В одном варианте осуществления, можно использовать насос (см., например, Langer, 1990, *Science* 249:1527-1533; Sefton, 1989, *CRC Crit. Ref. Biomed. Eng.* 14:201; Buchwald и др., 1980, *Surgery* 88:507; Saudek и др., 1989, *N. Engl. J. Med.* 321:574). В другом варианте осуществления, можно использовать полимерные материалы. (См., например, *Medical Applications of Controlled Release* (Langer и Wise eds., CRC Press, Boca Raton, Fla., 1974); *Controlled Drug Bioavailability, Drug Product Design and Performance* (Smolen и Ball eds., Wiley, New York, 1984); Ranger and Peppas, 1983, *Macromol. Sci. Rev. Macromol. Chem.* 23:61. См. также Levy и др., 1985, *Science* 228:190; During и др., 1989, *Ann. Neurol.* 25:351; Howard и др., 1989, *J. Neurosurg.* 71:105.) Другие системы с контролируемым высвобождением обсуждаются, например, в Langer, выше.

Антитело к IL-23p19 типично вводят в виде фармацевтических композиций, содержащих терапевтически эффективное количество антитела и один или несколько фармацевтически совместимых компонентов.

В типичных вариантах осуществления, фармацевтическую композицию приготавливают в соответствии с общепринятыми процедурами в виде фармацевтической композиции, адаптированной для внутривенного или подкожного введения людям. Типично, композиции для введения путем инъекции представляют собой растворы в стерильной изотоническом водном буфере. При необходимости, фармацевтические препараты также могут включать солибилизирующий агент и местный анестетик, такой как лидокаин, для обезболивания места инъекции. Обычно компоненты поставляются либо отдельно или смешиваются совместно в единичной дозированной форме, например, в виде безводного лиофилизированного порошка или безводного концентрата в герметически запечатанном контейнере, таком как ампула или саше, с указанием количества активного компонента. Если фармацевтический препарат вводят путем инфузии, то он может быть диспергирован с инфузионного флакона, содержащего стерильную фармацевтической степени чистоты воду или солевой раствор. Если фармацевтический препарат вводят путем инъекции, то ампула стерильной воды для инъекции или солевого раствора может быть обеспечена таким образом, что компоненты могут быть смешаны перед введением.

Дополнительно, фармацевтическая композиция может быть представлена в виде фармацевтического набора, содержащего (а) контейнер, содержащий антитело к IL-23A в лиофилизированной форме, и (б) второй контейнер, содержащий фармацевтически приемлемый разбавитель (например, стерильную воду) для инъекций. Фармацевтически приемлемый разбавитель можно использовать для восстановления или разбавления лиофилизированного антитела к IL-23A. Необязательно связана с этим(и) контейнером(ами) может быть инструкция в форме установленной государственным органом, регулирующим производство, применение или безопасность фармацевтических препаратов или биологически продуктов, в инструкции указано разрешение органа относительно производства, применения или безопасности для введения людям.

Примеры фармацевтических композиций, используемых в контексте настоящего изобретения, раскрыты в примере 2, представленном далее в настоящем описании.

Изобретение в дальнейшем описывается со ссылкой на последующие примеры, которые не предназначены для ограничения объема изобретения.

### Примеры

Пример 1. Клиническое исследование.

Это исследование представляет собой экспериментальное подтвержденное концептуальное, многоцентровое, рандомизированное, двойное слепое, с плацебо-контролем, с параллельными группами в фазе 2 клиническое исследование с подбором доз антитела А у пациентов со среднетяжелой или тяжелой активной СД.

Исследование состоит из периода скрининга вплоть до максимально 4 недели, 12-ти недельного пе-

риода слепой внутривенной терапии (период 1), 14-недельного открытого исследования внутривенной терапии/периода промывки (период 2), 26-ти недельного периода подкожной терапии (период 3) и 15-недельного периода последующего наблюдения.

Около 240 пациентов подвергались скринингу и около 120 пациентов со средней степенью и тяжелой формой CD и язвами слизистой оболочки, обнаруженными при илеоколоноскопии, рандомизировали при соотношении 1:1:1 в одну из 3 следующих групп для лечения в период 1.

Группа 1: плацебо в/в (n=40).

Группа 2: антитело А 200 мг в/в (n=40).

Группа 3: антитело А 600 мг в/в (n=40).

Рандомизацию стратифицировали в соответствии с предыдущим опытом с анти-TNF терапией (ранее не леченный пациент отн. леченного ранее). Оценки безопасности и эффективности осуществляли до окончания исследования включительно. Окончание исследования определяли как дату, когда последний пациент завершал последний визит контрольного наблюдения.

Каждая леченная группа получала соответствующую дозу антитела А или плацебо путем в/в инфузии в неделю 0, неделю 4, и неделю 8. В неделю 12, пациентов оценивали относительно полной ремиссии, определяемой как достижение клинической ремиссии (CDAI показатель < 150) и эндоскопической ремиссии (CDEIS ≤4), подтвержденной центральным(ыми) независимым(ыми) экспертом(ами). Для пациентов с начальным изолированным илеитом эндоскопическая ремиссия определяется по CDEIS ≤2.

Лечение в период 2 определяли по исходу в неделю 12.

Пациенты, которые находились в полной ремиссии в неделю 12, прекращали введение лекарственных средств, и вводили в период "промывки" до недели 26.

В случае внезапного обострения заболевания в течение этого периода (включая визит E1), определяемого как повышение CDAI показателя ≥70 баллов по сравнению с неделей 12 и CDAI показателем 220 или больше, исследователь проводил илеоколоноскопию в течение 2 недель;

Если CDEIS показатель составлял ≤ 4 (у пациентов с начальным илеитом ≤2), пациенты продолжали период "промывки" вплоть до недели 26. Если CDEIS показатель составлял > 4 (у пациентов с начальным илеитом >2), пациенты получали открытое исследование с внутривенной индукционной терапией (3 дозы, разделенные 4-х недельными интервалами) с применением 600 мг антитела А, как описано на фиг. 1.

Пациенты, которые не достигали полной ремиссии в неделю 12, получали открытое исследование с внутривенной индукционной терапией (3 дозы, разделенные 4-х недельными интервалами) с применением 600 мг антитела А, как описано на фиг. 1.

Пациенты, которые находились в клинической ремиссии при визите E1, независимо от их исхода в неделю 12 и период лечения 2, входили в период 3 (открытое исследование подкожный период) и получали 4 инъекции антитела А (180 мг п/к), разделенные 8-ми недельными интервалами.

Илеоколоноскопию осуществляли для всех пациентов при скрининге, в неделю 12 и 52 для оценки эндоскопического ответа /ремиссии, и для получения биопсийных материалов слизистой оболочки для молекулярных фармакодинамических оценок перед и после лечения. Пациенты, у которых развивалось обострение заболевания после достижения полной ремиссии в неделю 12, также нуждались в илеоколоноскопии и получали открытое исследование с повторной индукционной терапией только в том случае, если их CDEIS равнялось >4 (у пациентов с начальным илеитом >2), подтвержденное центральным(ыми) независимым(ыми) экспертом(ами). Все колоноскопии записывали на видео с применением стандартного протокола и интерпретировали независимым(ыми) экспертом(ами), который(ые) не был (ли) ознакомлен(ы) с распределением исследуемых групп и хронометражем проведения процедур. Пациенты, принимающие участие в исследовании, давали разрешение на проведение вплоть до 4 колоноскопий.

Критериями эффективности были следующие критерии.

Первичная конечная точка эффективности представляла собой: клиническая ремиссия, например, в неделю 12, определенная как CDAI показатель < 150.

Вторичными конечными точками эффективности являлись следующие.

Клиническое улучшение, например, в неделю 12, определенное как либо CDAI показатель < 150 или CDAI уменьшение относительно исходных данных на по меньшей мере 100 баллов.

PRO ответ, например, в неделю 12, определенный либо по PRO-2 показателю <8 или уменьшению относительно исходных данных на по меньшей мере 8 баллов (PRO-2: исход, сообщаемый пациентом-2).

CDEIS ремиссия, определяемая как показатель 4 или меньше, например, в неделю 12 (для пациентов с начальным изолированным илеитом показатель 2 или меньше).

CDEIS ответ, определяемый как показатель 7 или меньше, например, в неделю 12 (для пациентов с начальным изолированным илеитом >50% уменьшение относительно исходных данных). Изменение SES-CD показателя, например, в неделю 12. Заживление слизистой оболочки, определяемое как отсутствие изъязвления слизистой оболочки, например, в неделю 12. Полная ремиссия, определяемая как клиническая ремиссия и эндоскопическая ремиссия (CDEIS), например, в неделю 12. Изменение относительно исходных данных для CDAI показателей в зависимости от визита.

Другими конечными точками эффективности являлись следующие.

Изменение относительно исходных данных для CDAI показателей в зависимости от визита.

Изменение относительно исходных данных для PRO-2 показателей в зависимости от визита.

Уменьшение на 75% для CDEIS показателей относительно исходных данных, например, в неделю

12.

Уменьшение на 75% для SES-CD показателей относительно исходных данных, например, в неделю

12.

Время до обострения для тех, которые достигали полной ремиссии и прекращали получать лекарственное средство, например, в неделю 12.

Время до обострения для тех, которые достигали клинической ремиссии, например, в неделю 26.

Изменение относительно исходных данных для частоты стула в зависимости от визита на основании дневника пациента.

Консистенция стула в зависимости от визита на основании дневника пациента.

Изменение относительно исходных данных для показателей боли в области живота в зависимости от визита на основании дневника пациента и показателей, на цифровой оценочной шкале от 0 (отсутствие боли) до 10 (наихудшая возможная боль).

Изменение относительно исходных данных для IBDQ показателей в зависимости от визита.

Изменение относительно исходных данных для CRP (С-реактивный белок), профиля кальпротектина и лактоферрина в зависимости от визита.

Поддержание клинической ремиссии после отмены кортикостероидов (с недели 12).

Уменьшение количества дренирующих свищей у пациентов с дренирующими свищами на момент включения в исследование.

PRO-2 ремиссия, например, в неделю 204/206/216, определенная с помощью PRO-2 показателя <75.

PRO-2 ответ, например, в неделю 204/206/216, определяемый как снижение относительно исходных данных на 50 баллов или больше.

Изменение для CDEIS в зависимости от визита.

Изменение для SES-CD в зависимости от визита.

CDEIS процентное изменение относительно исходных данных в зависимости от визита.

SES-CD процентное изменение относительно исходных данных в зависимости от визита.

Способы.

Исследование включало три периода лечения: 12-ти недельный двойной слепой внутривенный (в/в) период индукции, 14-ти недельный открытый период повторной в/в индукции /период "промывки" (то есть повторная индукция в недели 14-26 или промывка в недели 12-26 для пациентов, которые не подвергались повторной индукции), и 26-недельный подкожный поддерживающий период. В период индукции, пациенты (N=121), с клинически активным заболеванием (Индекс активности CD [CDAI] показатель  $\geq 220$ ), подтвержденный эндоскопически (CD Эндоскопический индекс тяжести [CDEIS] показатель  $\geq 7$ ;  $\geq 4$  для пациентов с изолированным илеитом), у которых оказались неэффективными либо TNF антагонист или общепринятая терапия CD, были рандомизировано разделены для получения либо антитела А (200 мг или 600 мг) или плацебо, в недели 0, 4, и 8. Первичная конечная точка представляла собой клиническую ремиссию (CDAI <150) в неделю 12. Вторичные конечные точки в неделю 12 включали клиническое улучшение, эндоскопическую ремиссию/ответ и полную ремиссию.

Пригодные пациенты имели возраст 18-75 лет. Им был поставлен диагноз CD в течение по меньшей мере 3 месяцев и при скрининге они имели средней степени и тяжелую форму CD, определяемую как Индекс активности CD (CDAI) 220-450, с язвами слизистой оболочки в подвздошной кишке и/или ободочной кишке, и Эндоскопический индекс тяжести CD (CDEIS)  $\geq 7$  ( $\geq 4$  для пациентов с изолированным илеитом) для показателей илеоколоноскопии для слепого центрального эксперта. Включали пациентов, которые либо ранее не получали лечения или которые получали один или несколько антагонистов фактора некроза опухоли (TNF) (табл. С). У некоторых пациентов был неадекватный ответ с, потерей ответа, или были нетолерантными к TNF антагонисту (табл. С). Пациенты, которые ранее получали лечение с применением устекинумаба, были исключены, так и пациенты, которые получали любой биологический агент в течение 8 недель или 5 периодов полувыведения биологического агента перед рандомизацией, то есть перед первым введением исследуемого агента. Анализировали различия между антителом А и плацебо, используя подходящие тесты для попарного сравнения биномиальных данных. Представлены результаты для периода индукции.

Таблица С

## Пациенты с предшествующим TNF антагонистом и исходом

	Плацебо N (%)	Антитело А 200 мг в/в N (%)	Антитело А 600 мг в/в N (%)	Всего N (%)
Количество пациентов	39 (100,0)	41 (100,0)	41 (100,0)	121 (100,0)
Предшествующее применение TNF антагониста, n(%)	39 (100,0)	41 (100,0)	41 (100,0)	121 (100,0)
1	12 ( 30,8)	9 ( 22,0)	9 ( 22,0)	30 ( 24,8)
2	20 ( 51,3)	23 ( 56,1)	24 ( 58,5)	67 ( 55,4)
>=3	5 ( 12,8)	7 ( 17,1)	4 ( 9,8)	16 ( 13,2)
Пропуск	2 ( 5,1)	2 ( 4,9)	4 ( 9,8)	8 ( 6,6)
Исход >=1 предшествующего TNF антагониста, n(%)	35 ( 89,7)	37 ( 90,2)	36 ( 87,8)	108 ( 89,3)
Неадекватный	10 ( 25,6)	16 ( 39,0)	11 ( 26,8)	37 ( 30,6)
	Плацебо N (%)	Антитело А 200 мг в/в N (%)	Антитело А 600 мг в/в N (%)	Всего N (%)
ответ	21 ( 53,8)	13 ( 31,7)	17 ( 41,5)	51 ( 42,1)
Потеря ответа	1 ( 2,6)	2 ( 4,9)	5 ( 12,2)	8 ( 6,6)
Неприемлемые побочные эффекты	2 ( 5,1)	3 ( 7,3)	1 ( 2,4)	6 ( 5,0)
Другие	1 ( 2,6)	3 ( 7,3)	2 ( 4,9)	6 ( 5,0)
Неизвестные				

## Результаты.

Исходные демографические характеристики и характеристики заболевания были сходными между исследуемыми группами. В целом, исследование проводили на 47 мужчинах и 74 женщинах, со средним возрастом 38,1 лет и средними показателями CDAI и CDEIS 306,8 и 13,4; 94,2% пациентов ранее получали  $\geq 1$  TNF антагонистов. В неделю 12, клиническая ремиссия достигалась у 24,4% и 36,6% пациентов с 200 мг и 600 мг антитела А, соответственно, по сравнению с 15,4% пациентов с плацебо ( $p=0,308$  и  $p=0,025$ ) (табл. 6); уровни клинического улучшения составляли 36,6% и 41,5% в группах с 200 мг и 600 мг антитела А, по сравнению с 20,5% в плацебо группах ( $p=0,103$  и  $p=0,037$ ). Эндоскопическую ремиссию достигали у 14,6% и 19,5% пациентов с 200 мг и 600 мг антитела А, по сравнению с 2,6% пациентов с плацебо ( $p=0,056$  и  $p=0,017$ ); эндоскопический ответ достигали у 26,8% и 36,6% пациентов с 200 мг и 600 мг антитела А, по сравнению с 12,8% пациентов с плацебо ( $p=0,117$  и  $p=0,014$ ). Полную ремиссию достигали у 2,4% и 12,2% пациентов с 200 мг и 600 мг антитела А, по сравнению с 0,0% для плацебо ( $p=1,0$  и  $p=0,062$ ). Заживление слизистой оболочки обнаруживали у 3,0%, 2,9% и 7,5% пациентов с плацебо, 200 мг и 600 мг антитела А. Побочные эффекты (АЕ) были сходными для антитела А и плацебо с отсутствием дозозависимого повышения АЕ. Более тяжелые и сильные АЕ описывали для группы с 600 мг антитела А. Результаты представлены в табл. 6 и 7. Табл. 6 и 7 включают объединенные значения для антитела А.

Клиническая ремиссия и клиническое улучшение для антитела А в течение 12 недель также представлено на фиг. 2. На фиг. 2, представлены следующие значения, слева направо, для недели 4, недели 8 и недели 12: плацебо, 200 мг антитела А, 600 мг антитела А, и объединенное антитело А.

## Фиг. 2А, клиническая ремиссия в динамике.

Неделя 4: плацебо (3 пациента/7,7% с клинической ремиссией), 200 мг антитела А (4 пациента/9,8% с клинической ремиссией), 600 мг антитела А (8 пациентов/19,5% с клинической ремиссией), объединенное антитело А (12 пациентов/14,6% с клинической ремиссией).

Неделя 8: плацебо (1 пациент/2,6% с клинической ремиссией), 200 мг антитела А (7 пациентов/17,1% с клинической ремиссией), 600 мг антитела А (10 пациентов/24,4% с клинической ремиссией), объединенное антитело А (17 пациентов/20,7% с клинической ремиссией).

Неделя 12: плацебо (6 пациентов/15,4% с клинической ремиссией), 200 мг антитела А (10 пациентов/24,4% с клинической ремиссией), 600 мг антитела А (15 пациентов/36,6% с клинической ремиссией), объединенное антитело А (25 пациентов/30,5% с клинической ремиссией).

## Фиг. 2В, клиническое улучшение в динамике.

Неделя 4: плацебо (6 пациентов/15,4% с клиническим улучшением), 200 мг антитела А (10 пациентов/24,4% с клиническим улучшением), 600 мг антитела А (13 пациентов/31,7% с клиническим улучше-

нием), объединенное антитело А (23 пациентов/28,0% с клиническим улучшением).

Неделя 8: плацебо (5 пациентов/12,8% с клиническим улучшением), 200 мг антитела А (13 пациентов/31,7% с клиническим улучшением), 600 мг антитела А (13 пациентов/31,7% с клиническим улучшением), объединенное антитело А (26 пациентов/31,7% с клиническим улучшением).

Неделя 12: плацебо (8 пациентов/20,5% с клиническим улучшением), 200 мг антитела А (15 пациентов/36,6% с клиническим улучшением), 600 мг антитела А (17 пациентов/41,5% с клиническим улучшением), объединенное антитело А (32 пациентов/39,0% с клиническим улучшением).

Средние значения CDAI в динамике представлены на фиг. 3А и табл. 8А. PRO-2 ответ в неделю 12 представлен в табл. 8В, PRO-2 ремиссия в неделю 12 представлена в табл. 8С.

Безопасность.

Не наблюдали связанного с дозой повышения какого-либо из АЕ, описанных для антитела А (табл. 11). Наиболее частые АЕ были связаны с желудочно-кишечным трактом. Частота тяжелых АЕ была выше в группе плацебо по сравнению с группами с антителом А (23%, 15%, и 7%, соответственно). АЕ, приводящие к отмене, были описаны для 15%, 12%, и 2% пациентов в группах с плацебо, 200 мг, и 600 мг антитела А (табл. 11). SAE наблюдали у 31%, 22%, и 7% пациентов в группах с плацебо, 200 мг, и 600 мг антитела А, соответственно. Наиболее частым SAE было ухудшение основного заболевания. Не наблюдали смертельных исходов, в то время как тяжелые инфекции были описаны в трех (абдоминальный, анальный и ректальный абсцесс, и пневмония), одного (пневмония), и двух пациентов (остеомиелит и анальный абсцесс) в группах плацебо, 200 мг, и 600 мг антитела А. Реакции, связанные с инфузией, были слабыми или умеренными и были описаны у 5%, 2%, и 2% пациентов в группах плацебо, 200 мг, и 600 мг антитела А.

Появившиеся во время лечения антитела к лекарственному препарату (ADA) были обнаружены у 4% пациентов, получавших Антитело А (3 из 76 пациентов). Значения титров ADA были низкими ( $\leq 8$ ) и не было обнаружено нейтрализующих антител. Уже существовавшие ADA были обнаружены у пациентов в группах, получавших дозы антитела А, и трех пациентов в группе плацебо

Выводы.

У пациентов с активной CD, селективная блокада IL-23 с помощью антитела А является более эффективной по сравнению с плацебо для индукции клинической и эндоскопической ремиссии в течение 12 недель и хорошо переносится.

Таблица 6

Конечные точки эффективности в неделю 12

	Плацебо (N=39)	Антитело А		
		200 мг (N=41)	600 мг (N=41)	Объединенные 200 мг + 600 мг (N=82)
Клиническая ремиссия — n/N (%)	6/39 (15,4)	10/41 (24,4) 9,0	15/41 (36,6) 20,9	25/82 (30,5) 15,1
Отличие отн.	н/д	0,308	0,025	0,049

	Плацебо (N=39)	Антитело А		
		200 мг (N=41)	600 мг (N=41)	Объединенные 200 мг + 600 мг (N=82)
плацебо р-значение				
Клиническое улучшение — n/N (%) Отличие отн. плацебо р-значение	8/39 (20,5) н/д	15/41 (36,6) 16,0 0,103	17/41 (41,5) 20,3 0,037	32/82 (39,0) 18,4 0,027
Эндоскопической ремиссии— n/N (%) Отличие отн. плацебо р-значение	1/39 (2,6) н/д	6/41 (14,6) 12,0 0,056	8/41 (19,5) 16,9 0,017	14/82 (17,1) 14,5 0,024
Эндоскопический ответ — n/N (%) Отличие отн. плацебо р-значение	5/39 (12,8) н/д	11/41 (26,8) 14,0 0,117	15/41 (36,6) 23,8 0,014	26/82 (31,7) 18,9 0,026
Полная ремиссия — n/N (%) Отличие отн. плацебо р-значение	0/39(0,0) н/д	1/41 (2,4) 2,4 1,000	5/41 (12,2) 12,2 0,062	6/82 (7,3) 7,3 0,182
Клиническую ремиссию определяли как CDAI показатель <150. Клиническое улучшение представляло собой либо CDAI показатель <150 или CDAI уменьшение относительно исходных данных на $\geq 100$ баллов. Эндоскопическая ремиссия представляла собой CDEIS показатель $\leq 4$ ; для пациентов с начальным изолированным илеитом показатель $\leq 2$ . Эндоскопический ответ представлял собой показатель 7 или меньше; для пациентов с начальным изолированным илеитом $>50\%$ уменьшение для CDEIS показателя относительно исходных данных. Полная ремиссия представляла собой клиническую ремиссию и эндоскопическую ремиссию. Анализ с полной выборкой использовали для этого анализа, используя последнее документированное значение для пропущенных значений и стратифицированные критерии Кохрана-Мантеля-Гензеля для клинических конечных точек; для эндоскопических конечных точек, метод подстановки данных отсутствия ответа использовали для пропущенных значений и анализировали с помощью критерия хи-квадрат Пирсона, используя точный критерий Фишера для полной ремиссии. CDAI, индекс активности болезни Крона; CDEIS, Эндоскопический индекс тяжести болезни Крона.				

В табл. 7 представлены конечные точки эффективности в неделю 12 с усовершенствованным статистическим анализом (см. также табл. 6). Живления слизистой оболочки также представлены в табл. 7.

Конечные точки эффективности в неделю 12

	Плацебо (N=39)	Антитело А		
		200 мг (N=41)	600 мг (N=41)	Объединенное (N=82)
<b>Клиническая ремиссия</b> — n (%)	6 (15,4)	10 (24,4)	15 (36,6)	25 (30,5)
95% дов. интервал	5,9, 30,5	12,4, 40,3	22,1, 53,1	20,8, 41,6
Отличие отн. плацебо		9,0	20,9	15,1
95% дов. интервал		-8,3, 26,2	2,6, 39,2	0,1, 30,1
p-значение		0,31	0,025	0,049
<b>Клиническое улучшение</b> — n (%)	8 (20,5)	15 (36,6)	17 (41,5)	32 (39,0)
95% дов. интервал	9,3, 36,5	22,1, 53,1	26,3, 57,9	28,4, 50,4
Отличие отн. плацебо		16,0	20,3	18,4
95% дов. интервал		-3,2, 35,2	1,3, 39,4	2,1, 34,8
p-значение		0,10	0,037	0,027
<b>Эндоскопической ремиссии</b> — n (%)	1 (2,6)	6 (14,6)	8 (19,5)	14 (17,1)
95% дов. интервал	0,1, 13,5	5,6, 29,2	8,8, 34,9	9,7, 27,0
Отличие отн. плацебо		12,1	16,8	14,5
95% дов. интервал		0,8, 23,4	3,9, 29,7	5,5, 23,5
p-значение		0,036	0,011	0,002
<b>Эндоскопический ответ</b> — n (%)	5 (12,8)	11 (26,8)	15 (36,6)	26 (31,7)
95% дове. интервал	4,3, 27,4	14,2, 42,9	22,1, 53,1	21,9, 42,9
Отличие отн. плацебо		14,1	23,5	18,7
95% доверительный интервал		-2,8, 30,9	5,5, 41,5	4,4, 33,0
p-значение		0,10	0,011	0,010
<b>Заживления слизистой оболочки</b> — n (%)	1 (2,6)	1 (2,4)	3 (7,3)	4 (4,9)
95% дов. интервал	0,1, 13,5	0,1, 12,9	1,5, 19,9	1,3, 12,0
Отличие отн. плацебо		-0,1	4,9	2,4
95% дов. интервал		-7,0, 6,7	-4,6, 14,3	-4,5, 9,2
p-значение		0,97	0,31	0,50
<b>Полная ремиссия</b> — n (%)	0	1 (2,4)	5 (12,2)	6 (7,3)
95% дов. интервал	0,0, 9,0	0,1, 12,9	4,1, 26,2	2,7, 15,2
Отличие отн. плацебо		2,4	12,4	7,4
95% дов. интервал		-2,3, 7,1	2,3, 22,5	1,7, 13,0
p-значение		0,31	0,016	0,011

Клиническую ремиссию определяли как CDAI показатель <150. Клиническое улучшение представляло собой либо CDAI показатель <150 или CDAI уменьшение на  $\geq 100$  относительно исходных данных. Эндоскопическая ремиссия представляла собой CDEIS показатель  $\leq 4$  в неделю 12 ( $\leq 2$  для пациентов с начальным изолированным илеитом). Эндоскопический ответ представлял собой  $>50\%$  уменьшение для CDEIS показателя относительно исходных данных до недели 12. Заживление слизистой оболочки определяли как отсутствие изъязвления слизистой оболочки. Полная ремиссия представляла собой клиническую ремиссию и эндоскопическую ремиссию. Анализ с полной выборкой использовали для этого анализа, используя метод подстановки данных отсутствия ответа для пропущенных значений и стратифицированные критерии Кохрана-Мантеля-Гензеля.

CDAI, индекс активности болезни Крона; CDEIS, Эндоскопический индекс тяжести болезни Крона; SD, стандартное отклонение.

Биомаркеры.

Средние CRP концентрации понижались в динамике в обеих группах с антителом А по сравнению с плацебо и были существенно уменьшены по сравнению с плацебо в неделю 12 ( $P < 0,001$ ; фиг. 3B). Лечение с применением 600 мг антитела А существенно снижает уровни FCP (от исходных значений до недели 12) по сравнению с плацебо ( $P < 0,001$ ; фиг. 3C). Дополнительно, значительно большее снижение уровней IL-22 в плазме (от исходных значений до недели 12) наблюдали для 600 мг антитела А относительно плацебо ( $P = 0,018$ ; фиг. 3D). Уровни IL-22 измеряли в плазме крови пациента, используя Egenna® SMCT™ IL-22 Иммунологический анализ - метод квазиколичественного флуоресцентного сэндвич-иммунологического анализа. FCP измеряли в экскрементах, используя ферментный иммуноанализ, с помощью Buhlmann Laboratories AG, и тестировали с помощью Covance Central laboratories.

В табл. 8А также показано среднее CRP (мг/л) в динамике, средний FCP (мкг/г) в динамике и сред-

ний % изменения в IL-22 в динамике (Исх: исходное значение, IQR: межквартильный размах).  
Таблица 8А

## Средний CDAI в динамике

Среднее (IQR)	Плацебо	200 мг Антитела А	600 мг Антитела А
Исх	294,8 (236,8, 385,5)	310,9 (247,0, 347,7)	298,1 (259,3, 330,0)
Неделя 4	308 (228,8, 342,4)	238 (186,0, 318,0)	247 (185,4, 304,7)
Среднее (IQR)	Плацебо	200 мг Антитела А	600 мг Антитела А
Неделя 8	277,3 (239,2, 337,0)	264 (169,1, 335,7)	209,4 (138,3, 299,0)
Неделя 12	282,6 (173,2, 397,0)	242,7 (138,0, 348,5)	204,3 (92,1, 284,5)

## Среднее CRP (мг/л) в динамике

Среднее (IQR)	Плацебо	200 мг Антитела А	600 мг Антитела А
Исх	14,0 (3,2, 34,3)	10,6 (4,5, 33,6)	7,8 (2,0, 28,9)
Неделя 4	8,3 (3,6, 27,7)	6,9 (3,3, 17,6)	4,2 (1,3, 9,8)
Неделя 8	7,6 (4,6, 18,1)	5,2 (2,1, 11,5)	2,7 (1,6, 11,1)
Неделя 12	12,6 (4,7, 25,4)	5,8 (3,2, 14,7)	2,6 (0,9, 9,3)

## Среднее FCP (мкг/г) в динамике

Среднее (IQR)	Плацебо	200 мг Антитела А	600 мг Антитела А
Исх	1746,5 (672,0, 2792,0)	1364,0 (527,0, 2319,0)	1101,0 (434,0, 3539,0)
Неделя 4	1515,5 (765,0, 2391,0)	765,0 (365,0, 1525,0)	680,5 (199,0, 1658,0)
Неделя 8	1110,0 (526,0, 2360,0)	588,0 (192,0, 940,0)	292,0 (142,0, 1414,0)
Неделя 12	1094,0 (621,0, 2467,0)	590,5 (201,0, 1445,0)	198,0 (62,0, 855,0)

## Среднее изменение в % в IL-22 в динамике

Среднее (IQR)	Плацебо	200 мг Антитела А	600 мг Антитела А
Исх	0	0	0
Неделя 4	-10,5 (-34,2, 16,3)	-28,6 (-39,6, 4,3)	-40,0 (-52,7, -1,4)
Неделя 8	3,5 (-36,8, 27,3)	-36,4 (-56,6, -10,0)	-34,1 (-52,9, -21,3)
Неделя 12	-16,7 (-39,0, 36,8)	-34,3 (-58,3, 4,3)	-44,2 (-58,8, -14,3)

Таблица 8В

## PRO-2 ответ в неделю 12

PRO-2 ответ в неделю 12	Плацебо	Антитело А 200 мг в/в	Антитело А 600 мг в/в	Антитело А 200+600 мг в/в
Количество пациентов [N (%)]	39 (100,0)	41 (100,0)	41 (100,0)	82 (100,0)
Количество (%) удовл. PRO-2 ответов в неделю 12	11 (28,2)	17 (41,5)	19 (46,3)	36 (43,9)
95% доверительный интервал[1]	(15,0, 44,9)	(26,3, 57,9)	(30,7, 62,6)	(33,0, 55,3)
Сравнение отн. Плацебо Оценка различия 95% доверительный интервал[2] p-значения[2]		13,30 (-6,9, 33,5) 0,1959	17,65 (-2,6, 37,9) 0,0873	15,37 (-2,0, 32,7) 0,0828
Сравн. отн. Антитела А 200 мг в/в Оценка различия 95% доверительный интервал[2] p-значения[2]			3,43 (-17,2, 24,0) 0,7443	

[1] - Точный 95% CI согласно Clopper и Pearson.

[2] - Рассчитывали статистику для определения отличий, используя различие рисков Кочрен-Мантеля-Хенселя, стратифицированное для не получавших лечение с применением TNF относительно получавших лечение с применением TNF.

Таблица 8С

PRO-2 ремиссия в неделю 12				
PRO-2 ремиссия в неделю 12	Плацебо	Антитело А 200 мг в/в	Антитело А 600 мг в/в	Антитело А 200+600 мг в/в
Количество пациентов [N (%)]	39 (100,0)	41 (100,0)	41 (100,0)	82 (100,0)
Количество (%) удовл. PRO-2 ремиссии в нед. 12	6 (15,4)	12 (29,3)	15 (36,6)	27 (32,9)
95% доверительный интервал[1]	(5,9, 30,5)	(16,1, 45,5)	(22,1, 53,1)	(22,9, 44,2)
Сравнение отн. Плацебо Оценка различия 95% доверительный интервал[2] р-значение[2]		13,89 (-4,0, 31,8) 0,1276	20,45 (2,6, 38,3) 0,0245	17,24 (2,3, 32,2) 0,0237
Сравнение отн. Антитела А 200 мг в/в Оценка различия 95% доверительный интервал[2] р-значение[2]			6,11 (-13,6, 25,8) 0,5426	

[1] Точный 95% CI согласно Clopper и Pearson.

[2] Рассчитывали статистику для определения отличий, используя различие рисков Кочрен-Мантеля-Хенселя, стратифицированное для не получавших лечение с применением TNF относительно получавших лечение с применением TNF.

Молекулярный профиль.

Ткань ободочной кишки собирали на момент включения в исследование и в неделю 12 из подгруппа пациентов (63% 200 мг антитела А, 66% 600 мг антитела А, и 67% плацебо). Наблюдали существенное уменьшение экспрессии выбранных генов, связанных с иммунными путями, связанными с IL-23, для пациентов, леченных с применением антитела А относительно плацебо (табл. 9).

Таблица 9

Выбранные гены снижались в ободочной кишке под воздействием антитела А через 12 недель после лечения, как оценивали с помощью анализа секвенирования РНК

Дифференциально экспрессируемый ген согласно анализа секв РНК	Название белка	Леченные Антителом А (группы с комбинированной дозой)	
		Log <sub>2</sub> Кратное изменение (отн. исходных значений)	р-значение
<b>Связанные с каскадом IL-23/IL-17</b>			
<i>IL-23A</i>	Интерлейкин 23А	-3,07	0,0004
<i>IL-26</i>	Интерлейкин 26	-1,16	0,0024
<b>S100 семейство кальций-связывающих белков</b>			
<i>S-100A8</i>	S100 кальций-связ. белок А8	-2,37	0,0023
<i>S-100A9</i>	S100 кальций-связ. белок А9	-1,90	0,0034
<i>S-100A12</i>	S100 кальций-связ. белок А12	-2,92	0,0018
<b>Пути, связанные с иммунной системой</b>			
<i>IL-6</i>	Интерлейкин 6	-3,07	0,0003
<i>IL-8</i>	Интерлейкин 8	-2,59	0,0029
<i>IL-11</i>	Интерлейкин 11	-2,66	0,0015
<i>IL-18RAP</i>	Интерлейкин 18 RAP	-0,89	0,0026
<i>IL-20RB</i>	Интерлейкин 20 RB	-0,39	0,0028

Исследовали молекулярный профиль в ткани ободочной кишки и/или подвздошной кишки в подгруппе пациентов, ранее получавших анти-TNF с CD, которым вводили либо 200 мг (n=26), 600 мг (n=27) Антитело А или плацебо (n=26). От каждого пациента, получали 6-9 образцов биопсии из воспаленных очагов в ободочной или подвздошной кишке на момент включения в исследование и в 12 неделю после лечения. Образцы биопсии из подвздошной кишки и из ободочной кишки отдельно анализировали путем транскриптом-широкого профилирования секвенирования РНК. Оценивали однофакторные ассоциации, используя линейную регрессию. Рассчитывали величину эффекта, р-значения и FDR для важных генов.

CDEIS ответ (>50% уменьшение относительно исходных данных) и CDEIS ремиссию ( $\leq 4$ ; для пациентов с изолированным илеитом  $\leq 2$ ) оценивали в неделю 12 с помощью независимого слепого эксперта.

Лечение с применением антитела А существенно уменьшает экспрессию 1146 генов относительно исходных данных в неделю 12 в ткани ободочной кишки CD пациентов относительно плацебо ( $p < 0,05$ ). Заслуживает внимание и тот факт, что существенное снижение экспрессии генов, связанных с IL-23 путем (IL-23A, IL-26, IL-21R, IL-17A, STAT3), генетически преддетерминированного иммунитета (IL6, IL7, IL7R, IL8, ICAM1, IL1, IL11, IL13RA2, IL15RA, IL18R1, TNF), тканевого метаболизма (S-100A8, A9, A12, MMP1, MMP3, MMP9, MMP12, ADAM8, ADAM12, ADAM33) и семейства транспортера растворённых веществ (SLC11A1, SLC1A3, SLC2A3, SLC2A6, SLC6A14, SLC7A11, SLC7A5) наблюдали при лечении с применением антитела А. Эти суммарные изменения экспрессии генов в группе, леченной с применением антитела А, отражают молекулярные изменения, наблюдаемые у пациентов, обеспечивающих CDEIS ответ и ремиссию в неделю 12. Сравнение изменений экспрессии генов в ободочной кишке, существенно модулируемых с помощью антитела А в неделю 12 относительно анти-TNF лечения в неделю 14 в опубликованной группе пациентов указывает на значительное снижение супрессии путем, связанным с эпителиальной биологией (межклеточная адгезия, морфогенез, внутриклеточная передача сигналов, передача сигналов вторичными мессенджерами) после лечения с помощью антитела А. В отличие от этого, не наблюдали существенных изменений в молекулярном профиле в подвздошной кишке у пациентов, леченных с применением антитела А по сравнению с плацебо относительно исходных данных в неделю 12.

Фармакохимические/фармакодинамические анализы.

Взаимосвязь концентраций антитела А и CDAI или CDEIS категориального ответа в неделю 12 указывает на то, что средние (95% CI) CDAI и CDEIS частоты ответов повышаются от 36% (23%, 51%) до 47% (33%, 62%) и от 33% (21%, 49%) до 36% (23%, 53%) для 200 мг - 600 мг средних концентраций в Неделю 12, соответственно (табл. 10А).

Концентрации антитела А в плазме крови отбирали перед введением дозы и в недели 2, 4, 8, 12, 23, и 26, затем каждые 8 недель до недели 50 и в недели 52 и 65 (последний визит). Концентрации определяли путем утвержденного твердофазного иммуоферментного анализа. Фармакокинетику оценивали, используя нелинейный популяционный подход смешанных эффектов, используя NONMEM v7.3. Использовали R программное обеспечение для статистического расчета (пакет glm) для логистического регрессионного анализа для исследования взаимосвязей CDEIS и CDEI ответа как зависимой, классифицированной переменной и концентраций антитела А в неделю 12 в качестве независимой переменной.

Таблица 10А

Предсказанная вероятность ответа CDAI и CDEIS с помощью квантиля антитела А

Леченная группа	Квантиль концентрации Антитела А	Концентрация в неделю 12	Предсказанная вероятность ответа	95% Доверительный интервал
<b>Предсказанная вероятность ответа CDAI с помощью квантиля концентраций Антитела А</b>				
Плацебо	0	0	0,33	(0,18-0,51)
200 мг	мин	1000	0,33	(0,19-0,51)
	0,25	5810	0,35	(0,22-0,51)
	0,5	8060	0,36	(0,23-0,51)
	0,75	12100	0,37	(0,25-0,51)
	Макс	22600	0,41	(0,31-0,53)
600 мг	мин	2940	0,34	(0,20-0,51)
	0,25	22425	0,41	(0,31-0,53)
	0,5	36400	0,47	(0,33-0,62)
	0,75	44150	0,50	(0,32-0,68)
	Макс	68900	0,60	(0,29-0,85)
<b>Предсказанная вероятность ответа CDEIS с помощью квантиля концентраций Антитела А</b>				
Плацебо	0	0	0,33	(0,17-0,52)
200 мг	мин	1000	0,33	(0,18-0,52)
	0,25	5810	0,33	(0,20-0,50)
	0,5	8060	0,33	(0,21-0,49)
	0,75	12100	0,34	(0,22-0,48)
	Макс	22600	0,35	(0,25-0,47)
600 мг	мин	2940	0,33	(0,19-0,51)
	0,25	22425	0,35	(0,24-0,47)
	0,5	36400	0,36	(0,23-0,52)
	0,75	44150	0,37	(0,21-0,56)
	Макс	68900	0,40	(0,14-0,73)

Предсказанные частоты клинического и эндоскопического ответа и ремиссии с помощью квартиля концентраций антитела А в неделю 12

Леченная группа	Квартиль концентрации Антитела А	Средняя концентрация в неделю 12 (нг/мл)	Предсказанная частота ответа	95% доверительный интервал
<b>Вероятность клинического улучшения</b>				
Плацебо	0	0	0·26	(0·17–0·37)
200 мг	Q1	4680	0·28	(0·20–0·39)
	Q2	6470	0·29	(0·21–0·39)
	Q3	9510	0·31	(0·23–0·40)
	Q4	16200	0·35	(0·26–0·44)
600 мг	Q1	17100	0·35	(0·27–0·45)
	Q2	27800	0·42	(0·31–0·53)
	Q3	41200	0·50	(0·34–0·67)
	Q4	48200	0·55	(0·35–0·73)
<b>Вероятность клинической ремиссии</b>				
Плацебо	0	0	0·18	(0·11–0·28)
200 мг	Q1	4680	0·20	(0·13–0·30)
	Q2	6470	0·21	(0·14–0·30)
	Q3	9510	0·22	(0·15–0·32)
	Q4	16200	0·26	(0·19–0·35)
600 мг	Q1	17100	0·27	(0·19–0·36)
	Q2	27800	0·34	(0·24–0·45)
	Q3	41200	0·43	(0·28–0·60)
	Q4	48200	0·48	(0·29–0·68)
<b>Вероятность эндоскопического ответа</b>				
Плацебо	0	0	0·23	(0·14–0·35)
200 мг	Q1	4690	0·24	(0·16–0·35)
	Q2	6520	0·25	(0·17–0·36)
	Q3	10300	0·26	(0·18–0·36)
	Q4	17100	0·29	(0·21–0·38)
600 мг	Q1	17000	0·29	(0·21–0·38)
	Q2	29700	0·33	(0·23–0·46)
	Q3	41200	0·38	(0·23–0·56)
	Q4	47700	0·41	(0·23–0·62)
<b>Вероятность эндоскопической ремиссии</b>				
Плацебо	0	0	0·09	(0·04–0·18)
200 мг	Q1	4690	0·10	(0·05–0·19)
	Q2	6520	0·10	(0·05–0·19)
	Q3	10300	0·11	(0·06–0·19)
	Q4	17100	0·13	(0·07–0·21)
600 мг	Q1	17000	0·12	(0·07–0·21)
	Q2	29700	0·16	(0·09–0·27)
	Q3	41200	0·20	(0·10–0·37)
	Q4	47700	0·23	(0·10–0·45)

Клиническое улучшение определяли либо как CDAI <150 или CDAI уменьшение относительно исходных данных на >100 в неделю 12. Клиническую ремиссию определяемой как CDAI <150 в неделю 12. Эндоскопический ответ определяли как >50% CDEIS уменьшение относительно исходных данных. Эндоскопическую ремиссию определяли как CDEIS ≤4 в неделю 12 (≤2 для пациентов с начальным изолированным илеитом). Квартильные концентрации соответствовали мин-25% (Q1), 25-50% (Q2), 50-75% (Q3), и 75%-макс (Q4) квартильному диапазону.

Обобщенные результаты побочных эффектов (в период лечения в неделю 12)

Побочные эффекты — n (%)	Плацебо (N=39)	Антитело А	
		200 мг (N=41)	600 мг (N=41)
Любые АЕ	32 (82)	32 (78)	31 (76)
Тяжелые АЕ	9 (23)	6 (15)	3 (7)
Связанные с лекарственным средством АЕ	8 (21)	10 (24)	5 (12)
АЕ, приводящие к отмене	6 (15)	5 (12)	1 (2)
Тяжелые АЕ* Сохраняющаяся или существенная потеря трудоспособности/нетрудоспособность Необходимая или пролонгированная госпитализация Другое медицинское важное тяжелое состояние	12 (31) 0 10 (26) 4 (10)	9 (22) 1 (2) 8 (20) 1 (2)	3 (7) 0 2 (5) 1 (2)
Общепринятые АЕ <sup>†</sup>			
Тошнота	4 (10)	8 (20)	3 (7)
Ухудшение болезни Крона	6 (15)	2 (5)	0
Боль в области живота	4 (10)	6 (15)	3 (7)
Артралгия	3 (8)	6 (15)	6 (15)
Анемия	4 (10)	0	2 (5)
Головная боль	4 (10)	6 (15)	4 (10)
Рвота	4 (10)	3 (7)	2 (5)

\*Тяжелое АЕ определяли как любое А, которое приводит к летальному исходу, остро угрожает жизни, приводит к устойчивой или существенной потере трудоспособности/нетрудоспособности, требуется или пролонгируется госпитализация пациента, представляет собой врожденную аномалию/порок развития, или представляет собой важное медицинское событие, основанное на подходящем врачебном мнении, которое может подвергать опасности жизнь пациента и может требовать медицинского или хирургического вмешательства.

<sup>†</sup>Обычные АЕ описываются в по меньшей мере 10% пациентов в любой исследуемой группе.

АЕ - побочное явление;

RCTC - критерии общей ревматологической токсичности.

Побочные эффекты кодировали, используя MedDRA v18.1. Степень тяжести АЕ оценивали в соответствии с RCTC v2.0.

Оценка анкеты для оценки воспалительных заболеваний кишечника (IBDQ) в неделю 12.

Оценка IBDQ указывает на уменьшение HRQoL рандомизированной исследуемой популяции на момент включения в исследование. Лечение с применением исследуемого лекарственного средства приводило к дозо-зависимому увеличению относительно исходных данных к неделе 12 на 7,3; 21,7 и 34,7 баллов в группе плацебо, группах с дозами 200 мг, и 600 мг, соответственно (табл. 12).

Таблица 12

Исходные данные и изменение относительно исходных данных в неделю 12 для IBDQ показателя

	Плацебо (N=39)	Антитело А	
		200 мг (N=41)	600 мг (N=41)
Исходные данные			
N	37	37	39
Среднее значение	119,3	110,2	111,5
СКО	34,9	30,1	27,8
Мин	53,0	53,0	52,0
Медиана	125,0	108,0	112,0
Макс	191,0	167,0	169,0
Изменение относительно исходных данных в неделю 12			
N			
Среднее	32	35	37
СКО	7,3	21,7	34,7
Мин	35,2	27,0	29,9
Медиана	-54,0	-28,0	-20,0
Макс	-0,5	20,0	35,0
	108	85,0	118,0

IBDQ - анкета для оценки воспалительных заболеваний кишечника; СКО, среднеквадратическое отклонение.

Лечение путем повторной индукции.

В неделю 12, пациенты входили в период 2; в данном случае, пациенты в полной ремиссии подвергались промывке и все другие пациенты подвергались открытому исследованию внутривенной повторной индукционной терапии (600 мг антитела А в недели 14, 18 и 22).

Результаты.

Исходные демографические характеристики и характеристики заболевания были сходными между исследуемыми группами. Средний возраст составил 38,1 лет и средние CDAI и CDEIS показатели составляли 298 и 12; 94% пациентов ранее получали  $\geq 1$  TNF антагонисты. В неделю 12, клиническую ремиссию достигали у 24,4% и 36,6% пациентов с 200 и 600 мг антитела А относительно 15,4% для плацебо ( $p=0,31$  и  $p=0,025$ ) и полную ремиссию достигали у 2,4% и 12,2% пациентов с 200 и 600 мг антитела А относительно 0% для плацебо ( $p=0,31$  и  $p=0,016$ ). У пациентов, входивших в период 2 без клинической ремиссии, открытое исследование с повторной индукцией пациенты в группе плацебо индуцировали степень клинической ремиссии, сходную с группой 600 мг в слепом периоде 1, повышение дозы от 200 до 600 мг индуцировало высокую степень клинической ремиссии, и лечение с повторной индукцией в группе с 600 мг дополнительно повышало степень клинической ремиссии в этой группе в неделю 26 (табл. 13). Ни у одного из пациентов с полной ремиссией не развивался рецидив во время фазы промывки антитела А до недели 26. Побочные эффекты были сходными между группой с антителом А и плацебо без дозозависимого повышения побочных эффектов в период 1. Антитело А хорошо переносилось период 2.

Выводы.

Терапия путем повторной индукции с применением 600 мг антитела А была эффективной для захвата более высокой степени клинической ремиссии в неделю 26. В целом, антитело А хорошо переносилось.

Таблица 13

Период 2: клиническая ремиссия в неделю 26 относительно недели 12

	Плацебо	200 мг Антитело А	600 мг Антитела А
Количество пациентов, подлежащих оценке, в Период 2	30	34	34
Пациенты в клинической ремиссии в Неделю 12, N	6	8	9
Пациенты в клинической ремиссии в Неделю 26, n (%) Да	6 (100)	6 (75)	9 (100)

Нет	0	2 (25)	0
Пациенты не в клинической ремиссии в неделю 12, N	24	26	25
Пациенты в клинической ремиссии в Неделю 26, n (%)			
Да	12 (50)	15 (58)	8 (32)
Нет	12 (50)	11 (42)	17 (68)

Доля пациентов в клинической ремиссии в неделю 26 после открытого исследования с внутривенной повторной индукционной терапией (600 мг Антитела А в Недели 14, 18 и 22) в Периоде 2 представлено с помощью схемы лечения исходного Периода 1 и предшествующей Недели 12 статуса клинической ремиссии. Все пациенты, которые не находились в полной ремиссии (клиническая ремиссия [CDAI <150] + эндоскопическая ремиссия [CDEIS ≤4; для пациентов с начальным изолированным илеитом CDEIS ≤2]) в Неделю 12 подвергались повторной индукционной терапии с применением Антитела А.

Пример 2. Фармацевтические композиции.

Примеры препаратов, подходящих для антитела согласно настоящему изобретению, представлены далее ниже. Антитела, используемые в препаратах ниже, представляют собой, например, антитело А, антитело В, антитело С или антитело D.

#### Препарат 1

Компоненты	Концентрация [ммоль/л]	Концентрация [г/л]	Номинальное количество [мг/флакон] V = 10,0 мл
Антитело		10,0	100,0
Янтарная кислота	0,7	0,083	0,8
Гексагидрат динатрий сукцината	24,3	6,564	65,6
Хлорид натрия	125	7,305	73,1
Полисорбат 20	0,16	0,20	0,20
Вода для инъекций	-	До 1 л	До 1 мл

pH препарата 1 типично находится в диапазоне pH 6,0-7,0, например, pH 6,5. Этот препарат чрезвычайно пригоден для внутривенного введения.

Молекулярный вес (МВ в г/моль) используемых наполнителей: гексагидрат динатрий сукцината = 270,14 г/моль; янтарная кислота = 118,09 г/моль; хлорид натрия = 58,44 г/моль.

Осмолярность препарата составляет 300 ±30 мОсмор/кг, как определяли, используя Osmomat 030 (Gonotec GmbH, Berlin, Germany). Плотность при 20°C препарата приблизительно составляет 1,0089 г/см<sup>3</sup>, как определяли, используя измерительный прибор DMA 4500 (Anton Paar GmbH, Ostfildern-Scharnhausen, Germany).

#### Препарат 2

Компоненты	Концентрация [ммоль/л]	Концентрация [г/л]	Номинальное количество [мг/шприц] V = 1,0 мл
Антитело	0,6	90,0	90,0
Янтарная кислота	0,5	0,059	0,059
Гексагидрат динатрий сукцината	3,9	1,054	1,054
Сорбит	225	41,00	41,00
Полисорбат 20	0,16	0,20	0,20
Вода для инъекций	-	До 1 л	До 1 мл

pH препарата 2 типично находится в диапазоне pH 5,5-6,5, например, 5,5-6,1, например, pH равно 5,8. Этот препарат чрезвычайно пригоден для подкожного введения.

Молекулярный вес (МВ в г/моль) используемых наполнителей:

МВ: янтарная кислота (C<sub>4</sub>H<sub>6</sub>O<sub>4</sub>) = 118,09 г/моль,

МВ: гексагидрат динатрий сукцината (C<sub>4</sub>O<sub>4</sub>Na<sub>2</sub>×6H<sub>2</sub>O) = 270,14 г/моль,

МВ: сорбит = 182,17 г/моль,

МВ: полисорбат 20 = 1227,72 г/моль.

Осмолярность препарата составляет 300 ±30 мОсмор/кг, как определяли, используя Osmomat 030 (Gonotec GmbH, Berlin, Germany). Плотность при 20°C препарата приблизительно составляет 1,040 г/см<sup>3</sup>, как определяли, используя измерительный прибор DMA 4500 (Anton Paar GmbH, Ostfildern-Scharnhausen, Germany).

## Препарат 3

Компоненты	Концентрация	Концентрация	Номинальное количество [мг/шприц] V = 1,0 мл
	[ммоль/л]	[г/л]	
Антитело	0,6	90,0	90,0
Сорбит	240	43,733	43,733
Полисорбат 20	0,16	0,20	0,20
Вода для инъекций	-	До 1 л	До 1 мл

pH препарата 3 типично находится в диапазоне pH 5,5 - 6,5, например, 5,5 - 6,1, например, pH равно 5,8. Этот препарат чрезвычайно пригоден для подкожного введения.

Молекулярный вес (МВ в г/моль) используемых наполнителей:

МВ: сорбит = 182,17 г/моль,

МВ: полисорбат 20 = 1227,72 г/моль.

Осмолярность препарата составляет  $300 \pm 30$  мОсмол/кг, как определяли, используя Osmomat 030 (Gonotec GmbH, Berlin, Germany).

## ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Применение антитела к IL-23A, содержащего легкую цепь, которая включает аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 18, и тяжелую цепь, которая включает аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 19 для приготовления лекарственного средства для лечения индуцированием ремиссии болезни Крона, где указанное лечение включает введение 3 индуцирующих доз, каждой по 600 мг, указанного антитела к IL-23A пациенту с интервалами 4 недели, где пациент достигает индекса активности болезни Крона - CDAI показателя меньше чем 150 в течение 12 недель после введения первой индуцирующей дозы.

2. Применение по п.1, в котором пациент достигает CDEIS показателя меньше чем или равного 4 в неделю 12, после введения первой индуцирующей дозы.

3. Применение по п.1, в котором пациент достигает CDAI показателя меньше чем 150 в неделю 4 после введения первой индуцирующей дозы.

4. Применение по любому из пп.1-3, где указанную индуцирующую дозу вводят путем внутривенной инфузии.

5. Применение по любому из пп.1-4, где указанный пациент достигает исхода, сообщаемого пациентом - PRO-2 показателя, равного или меньше чем 75 в течение 12 недель после введения первой индуцирующей дозы.

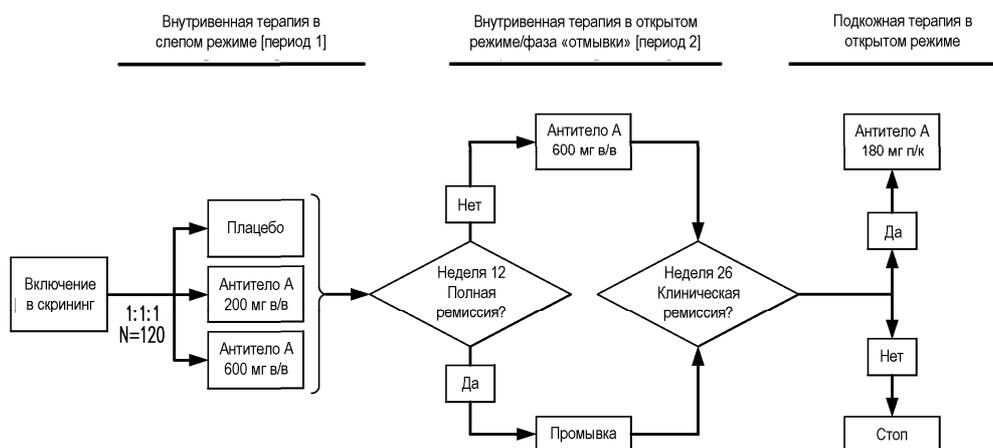
6. Применение по любому из пп.1-5, в котором лечение дополнительно включает поддержание ремиссии от среднетяжелой степени до тяжелой активной болезни Крона, путем:

б) подкожного введения первой поддерживающей дозы, составляющей 180 мг указанного антитела к IL-23A пациенту после введения последней индуцирующей дозы, где указанную первую поддерживающую дозу вводят через 2-8 недель после введения последней индуцирующей дозы; и

в) подкожного введения дополнительной поддерживающей дозы, составляющей 180 мг указанного антитела к IL-23A пациенту каждые 8 недель после введения указанной первой поддерживающей дозы.

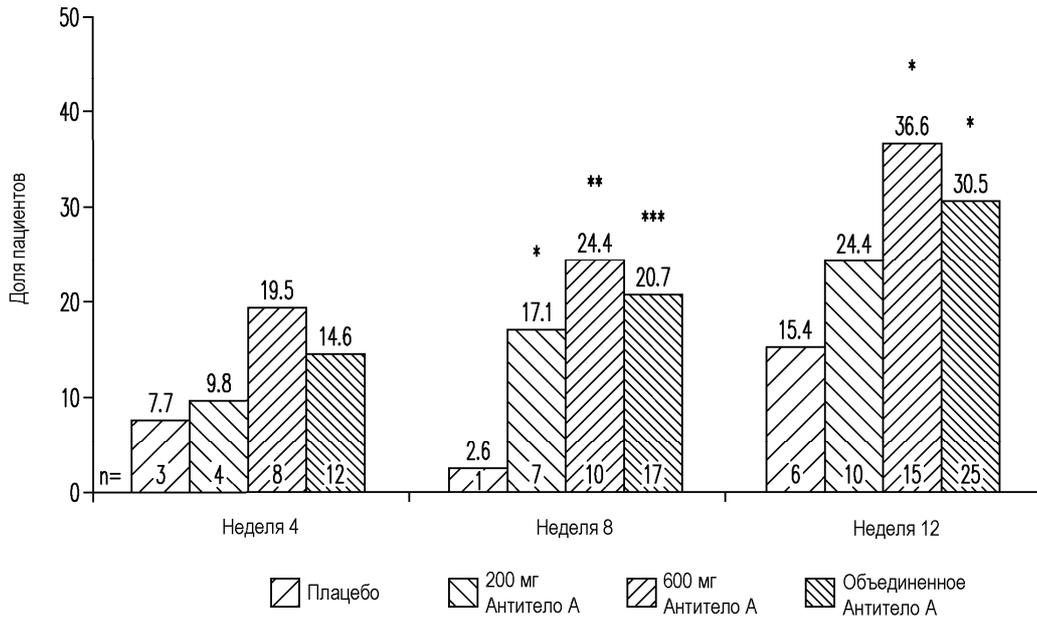
7. Применение по п.6, где указанный пациент поддерживает CDAI показатель меньше чем 150.

8. Применение по п.6, где указанный пациент поддерживает PRO-2 показатель, равный или меньше чем 75.



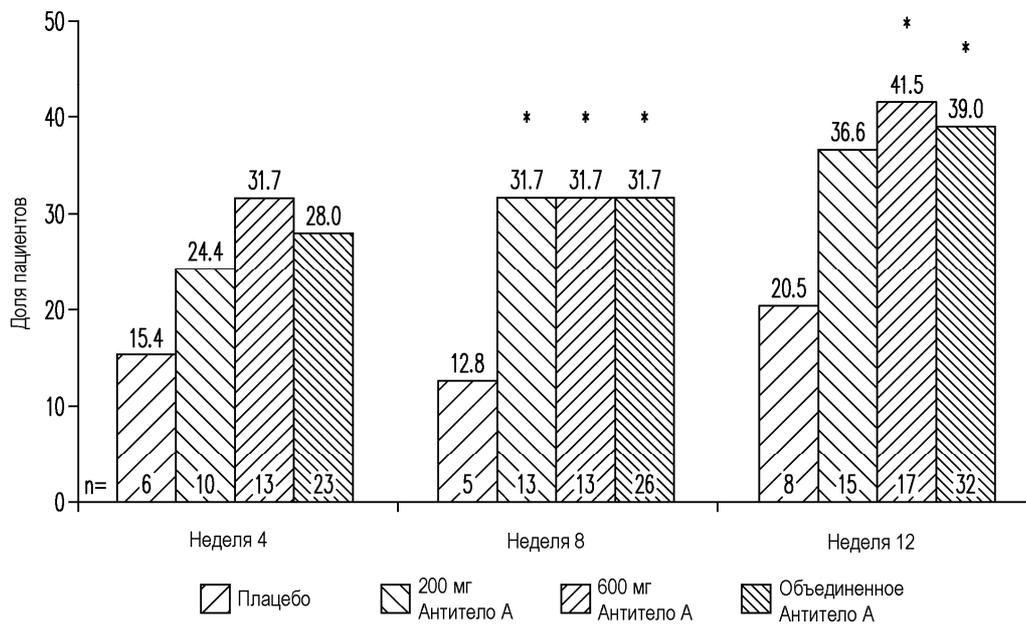
Фиг. 1

А. Клиническая ремиссия

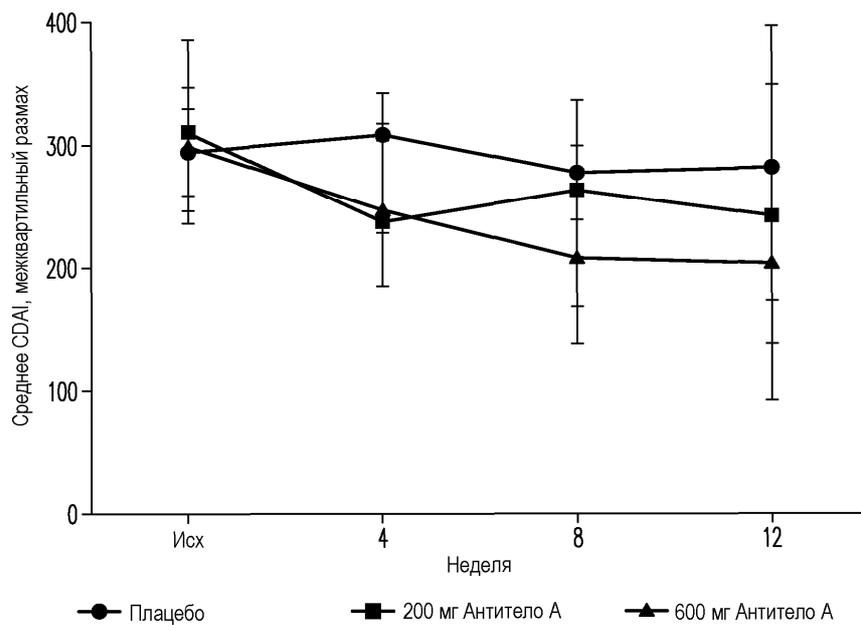


Фиг. 2А

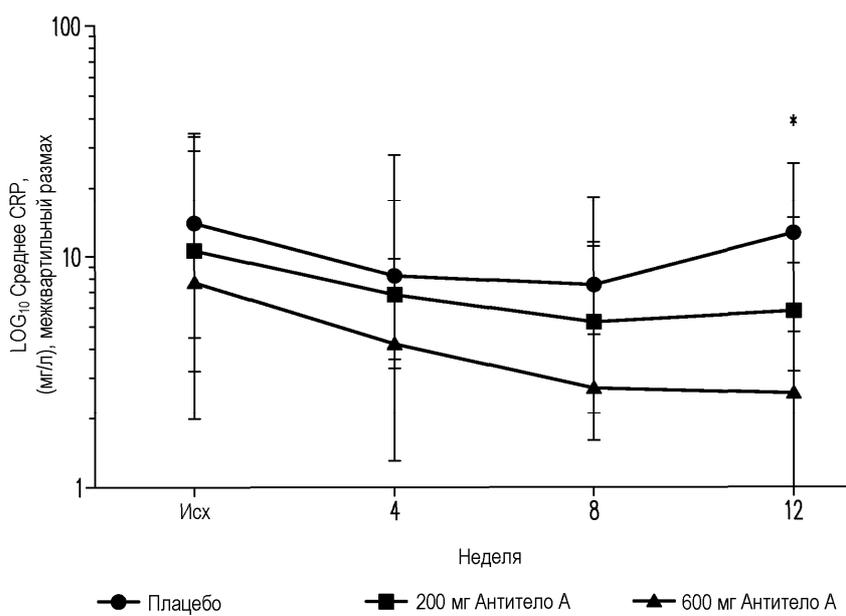
В. Клиническое улучшение



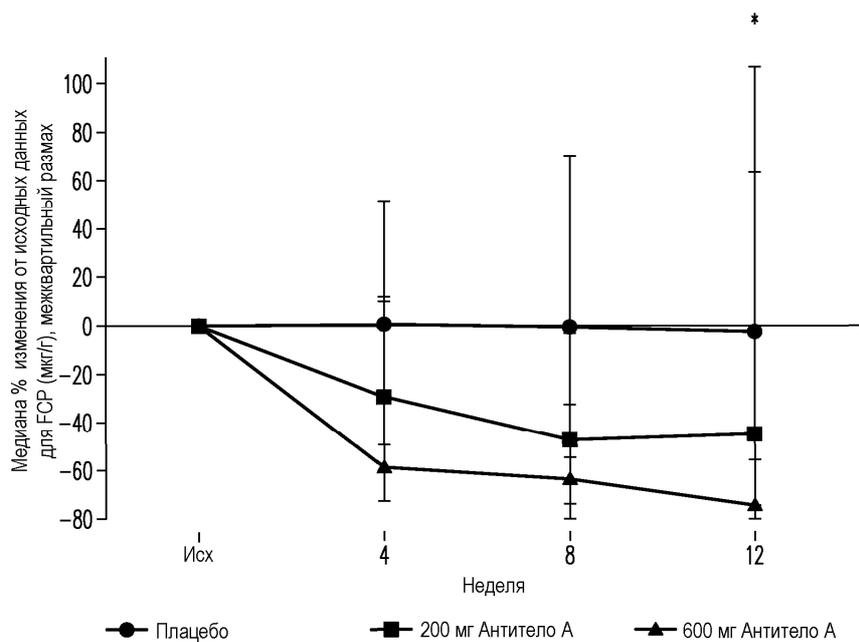
Фиг. 2В



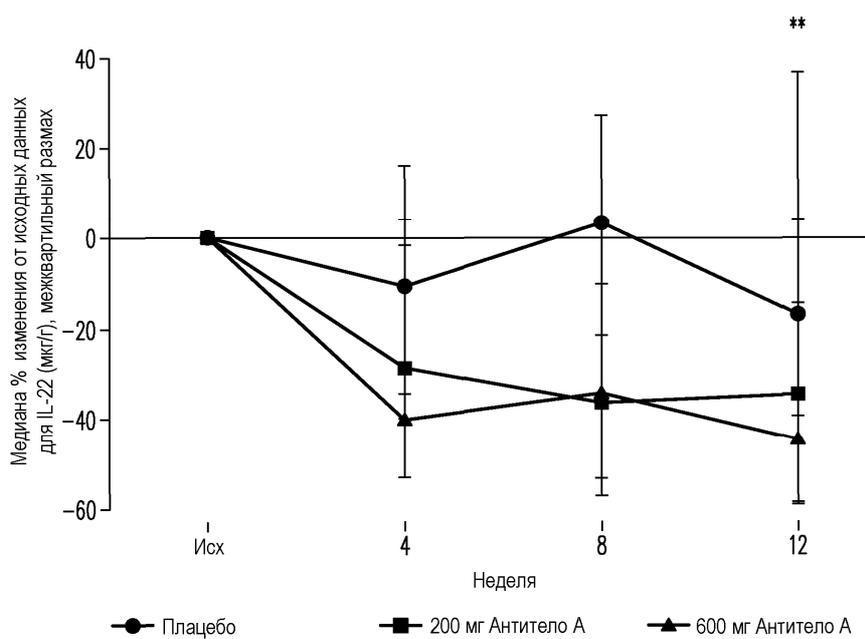
Фиг. 3А



Фиг. 3В



Фиг. 3С



Фиг. 3D

