

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(21) 202491078 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2024.06.19

(51) Int. Cl. C07K 16/24 (2006.01)
A61P 1/00 (2006.01)
A61P 37/06 (2006.01)

(22) Дата подачи заявки
2022.10.27

(54) СПОСОБЫ ЛЕЧЕНИЯ БОЛЕЗНИ КРОНА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ
СПЕЦИФИЧЕСКОГО АНТИТЕЛА К ИЛ-23

(31) 63/273,239

(32) 2021.10.29

(33) US

(86) PCT/IB2022/060353

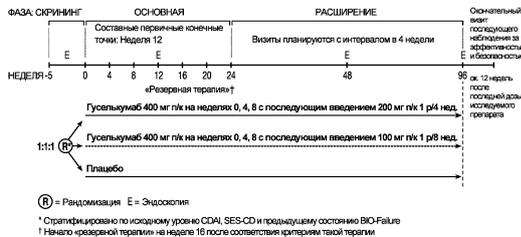
(87) WO 2023/073615 2023.05.04

(71) Заявитель:
ЯНССЕН БАЙОТЕК, ИНК. (US)

(72) Изобретатель:
Жерминаро Мэтью, Олуриде
Моболаджи, Саху Апарна, Йи
Жаклин, Адедокун Омонийи (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)

(57) Способ лечения болезни Крона заключается во введении пациенту специфического к ИЛ-23 антитела, например гуселькумаба, в начальной дозе подкожно и в последующих дозах подкожно, чтобы добиться ответа пациента на антитело и достичь одной или более клинических конечных точек.



202491078
A1

202491078
A1

СПОСОБЫ ЛЕЧЕНИЯ БОЛЕЗНИ КРОНА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ
СПЕЦИФИЧЕСКОГО АНТИТЕЛА К ИЛ-23

ОБЛАСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ ИЗОБРЕТЕНИЯ

5 [0001] Настоящее изобретение относится к способам лечения болезни Крона антителом, которое связывает ИЛ-23 человека. В частности, изобретение относится к схемам дозирования для введения специфического антитела к ИЛ-23 и специфических фармацевтических композиций, включающих антитело.

10 ССЫЛКА НА ПЕРЕЧЕНЬ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ, ПОДАННЫЙ В
ЭЛЕКТРОННОМ ВИДЕ

[0002] Данная заявка содержит перечень последовательностей, который представлен в электронном виде посредством Центра патентов при Центре товарных знаков и патентов США как перечень последовательностей формата XML с именем файла «JBI6635WOPCT1 SequenceListing.xml», датой создания 24 октября 2022 г. и размером 11 Кб. Перечень последовательностей, представленный посредством Центра патентов, является частью описания и полностью включен в настоящий документ путем ссылки.

20 ПРЕДПОСЫЛКИ СОЗДАНИЯ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[0003] Интерлейкин (ИЛ)-12 представляет собой секретируемый гетеродимерный цитокин, состоящий из 2 связанных дисульфидной связью гликозилированных белковых субъединиц, обозначенных как p35 и p40 в соответствии с приблизительными молекулярными массами. ИЛ-12 продуцируется главным образом антигенпредставляющими клетками и стимулирует клеточно-опосредованный иммунитет посредством связывания с двухцепочечным рецепторным комплексом, который экспрессируется на поверхности Т-клеток или естественных киллерных клеток (ЕК). Цепь бета-1 рецептора ИЛ-12 (ИЛ-12R β 1) связывается с субъединицей p40 ИЛ-12, обеспечивая первичное взаимодействие между ИЛ-12 и его рецептором. Однако именно связывание ИЛ-12p35 со второй цепью рецептора, ИЛ-12R β 2, возбуждает внутриклеточный сигнал (например, фосфорилирование STAT4) и активацию несущей рецептор клетки (Presky et al, 1996). Считается, что

сигнализация ИЛ-12, происходящая одновременно с представлением антигена, вызывает дифференцировку Т-клеток к фенотипу Т-хелпер 1 (Th1), характеризующемуся продукцией гамма-интерферона (IFN γ) (Trinchieri, 2003). Считается, что клетки Th1 стимулируют иммунитет к некоторым

5 внутриклеточным патогенам, генерируют изотипы антител с фиксацией комплемента и участвуют в иммунном надзоре за опухолями. Таким образом, ИЛ-12 считается важным компонентом иммунных механизмов защиты хозяина.

[0004] Было обнаружено, что белковая субъединица p40 ИЛ-12 может также соединяться с отдельной белковой субъединицей, обозначенной как p19, с
10 образованием нового цитокина, ИЛ-23 (Oppman et al, 2000). Сигнализация ИЛ-23 также осуществляется через двухцепочечный рецепторный комплекс. Поскольку субъединица p40 является общей для ИЛ-12 и ИЛ-23, следовательно, цепь ИЛ-12R β 1 также является общей для ИЛ-12 и ИЛ-23. Однако именно связывание ИЛ-23p19 со вторым компонентом комплекса рецептора ИЛ-23, ИЛ-23R,
15 возбуждает специфичную внутриклеточную сигнализацию ИЛ-23 (например, фосфорилирование STAT3) и последующую продукцию ИЛ-17 Т-клетками (Parham et al, 2002; Aggarwal et al. 2003). Недавние исследования показали, что биологические функции ИЛ-23 отличаются от таковых ИЛ-12, несмотря на структурное сходство между двумя цитокинами (Langrish et al, 2005).

20 **[0005]** Ненормальную регуляцию ИЛ-12 и популяций клеток Th1 связывали со многими иммунноопосредованными заболеваниями, поскольку нейтрализация ИЛ-12 антителами эффективна для животных моделей лечения псориаза, рассеянного склероза (РС), ревматоидного артрита, воспалительного
заболевания кишечника, инсулинозависимого сахарного диабета (1-го типа) и
25 увеита (Leonard et al, 1995; Hong et al, 1999; Malfait et al, 1998; Davidson et al, 1998). Однако поскольку эти исследования были нацелены на общую субъединицу p40, *in vivo* происходила нейтрализация как ИЛ-12, так и ИЛ-23. Поэтому было неясно, какой из двух цитокинов, ИЛ-12 или ИЛ-23, опосредовал
заболевание, и необходимо ли ингибировать оба цитокина, чтобы достичь
30 подавления заболевания. Недавние исследования на дефицитных по ИЛ-23p19 мышях или с нейтрализацией ИЛ-23 специфичными антителами подтвердили, что ингибирование ИЛ-23 может обеспечивать положительный результат, эквивалентный стратегиям против ИЛ-12p40 (Cua et al, 2003, Murphy et al, 2003, Benson et al 2004). Таким образом, появляется все больше доказательств

специфической роли ИЛ-23 в иммунноопосредованном заболевании.

Следовательно, нейтрализация ИЛ-23 без ингибирования путей ИЛ-12 может обеспечить эффективную терапию иммунноопосредованного заболевания с ограниченным воздействием на важный иммунный механизм защиты организма-хозяина. Это представляет собой значительное усовершенствование по сравнению с другими вариантами терапии.

[0006] В настоящее время существует три класса биологических агентов, одобренных для лечения болезни Крона умеренного или тяжелого течения: антагонисты фактора некроза опухоли (ФНО) (инфликсимаб, адалимумаб, цертолизумаб), ингибиторы интегрина (натализумаб и ведолизумаб) и ингибиторы к ИЛ-12/23 (устекинумаб). Хотя использование биологических агентов значительно увеличило эффективность клинического ведения пациентов с болезнью Крона умеренного или тяжелого течения, значительная часть целевой популяции пациентов не отвечает на лечение или со временем теряет восприимчивость к данному лечению. Обзор имеющихся данных по одобренным биологическим агентам выявил неудовлетворенную потребность в достижении и поддержании долгосрочной ремиссии, особенно среди пациентов, которые ранее оказались невосприимчивы к лечению с помощью биологических агентов. У всех получавших лечение пациентов (т.е. у всех пациентов, которые во время исследований были рандомизированы по группам, начиная с недели 0) частота наступления клинической ремиссии через 1 год в популяции пациентов с биологической неэффективностью или непереносимостью (BIO-Failure), составляет около 20% и колеблется в пределах от 20% до 50% в популяции пациентов с неэффективностью или непереносимостью стандартной терапии (CON-Failure).

[0007] Таким образом, в медицине остается значительная неудовлетворенная потребность в новых вариантах лечения, особенно в методах терапии с новыми механизмами действия, которые потенциально могут поднять планку эффективности и максимизировать долю пациентов, достигших и поддерживающих клиническую ремиссию.

ИЗЛОЖЕНИЕ СУЩНОСТИ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[0008] В первом аспекте изобретение относится к способу лечения субъекта, страдающего болезнью Крона, включающему введение пациенту специфического антитела к ИЛ-23 (также называемого ИЛ-23p19 или антителом к субъединице ИЛ-23p19), например, гуселькумаба, в начальной подкожной дозе с начала лечения и до 4 недель после начала лечения, а затем подкожное введение специфического антитела к ИЛ-23 один раз каждые 4 или 8 недель, например, введение дозы в неделю 0, 4, 8, 12 или 16, 20 или 24, 28 или 32, 36 или 40, 44 или 48. Кроме того, в другом варианте осуществления изобретения подкожное введение продолжают в течение 96 недель или дольше после начала лечения.

[0009] В одном варианте осуществления изобретения субъект получает специфическое антитело к ИЛ-23 в дозе 400 мг подкожно первоначально, через 4 недели после начальной дозы и через 8 недель после начальной дозы и продолжает лечение подкожным введением специфического антитела к ИЛ-23 в дозе 100 мг или 200 мг каждые 4 недели или каждые 8 недель в течение 24 недель после начального лечения и, возможно, с продолжением в течение 24 недель в течение 48 недель, 96 недель и далее.

[0010] В другом аспекте композиция, используемая в способе согласно настоящему изобретению, включает фармацевтическую композицию, содержащую специфическое антитело к ИЛ-23. В предпочтительном варианте осуществления изобретения специфическое антитело к ИЛ-23 представляет собой гуселькумаб в составе 7,9% (масс./об.) сахарозы, 4,0 мМ гистидина, 6,9 мМ L-гистидин моногидрохлорида моногидрата; 0,053% (масс./об.) полисорбата 80 в фармацевтической композиции; причем разбавитель представляет собой воду в стандартном состоянии.

[0011] В одном варианте осуществления изобретения специфическое антитело к ИЛ-23 будет предложено в концентрации 200 мг/мл в предварительно заполненном однократной дозой шприце с автоинъектором YpsoMate (PFS-Y), а в альтернативном варианте осуществления изобретения специфическое антитело к ИЛ-23 будет предложено в концентрации 100 мг/мл в предварительно заполненном однократной дозой шприце с пассивным защитным кожухом иглы UltraSafe PlusTM (PFS-U).

[0012] В одном варианте осуществления изобретения пациенты с болезнью Крона достигают значительного улучшения клинических конечных показателей, выбранных из следующего:

- 5 (i) изменение индекса активности болезни Крона (CDAI) относительно исходного уровня; оценка по шкале CDAI будет проводиться путем сбора информации по 8 различным переменным, связанным с болезнью Крона, с показателями в диапазоне от 0 до приблизительно 600. Уменьшение данной величины с течением времени указывает на улучшение течения заболевания.
- 10 (ii) ремиссия по сообщаемому пациентом результату (PRO)-2, определенная на основе невзвешенных компонентов CDAI общей частоты жидкого или очень мягкого стула и оценки частоты случаев боли в области живота (БЖ);
- 15 (iii) эндоскопические оценки слизистой оболочки кишечника на основе присутствия или отсутствия язв слизистой оболочки и простой эндоскопической оценки болезни Крона (SES-CD);
- (iv) гистологические оценки;
- (v) воспалительные фармакодинамические (ФД) маркеры, включая С-реактивный белок (СРБ) или фекальный кальпротектин;
- 20 (vi) оценка фистул;
- (vii) PRO-меры для оценки связанных со здоровьем результатов качества жизни, включая Опросник для оценки воспалительного заболевания кишечника (IBDQ) и Информационную систему для оценки результатов, сообщаемых пациентом (PROMIS)-29;
- 25 (viii) показатели симптомов, сообщаемые пациентами, включая Бристольскую шкалу стула (BSFS) и цифровую шкалу оценки БЖ (NRS);
- (ix) клиническая ремиссия на неделе 12, определяемая как CDAI менее (<) 150 баллов;
- (x) клинический ответ на неделе 12, определяемый как снижение показателя CDAI на 100 или более (>=) баллов относительно исходного уровня или CDAI < 150;
- 30 (xi) ответ на лечение на неделе 12, определенный по данным эндоскопии, на основе простого эндоскопического индекса активности болезни Крона

(SES-CD). SES-CD основана на эндоскопической оценке 4 компонентов в 5 илеоколонических участках с общим количеством баллов от 0 до 56;

(xii) ремиссия на неделе 12, определенная на основе эндоскопического исследования, на основе простого эндоскопического индекса активности болезни Крона (SES-CD); SES-CD \leq 2.

(xiii) Клиническая ремиссия на неделе 48, определяемая как показатель CDAI < 150 баллов.

(xiv) Стойкая клиническая ремиссия на неделе 48, определяемая как показатель CDAI < 150 в большинстве случаев из всех посещений пациентом врача в период с недели 12 и до недели 48.

(xv) Клиническая ремиссия без кортикостероидов на неделе 48, определяемая как CDAI < 150 на неделе 48, и отсутствие приема кортикостероидов на неделе 48.

(xvi) PRO-2 ремиссия на неделе 48, определяемая на основе среднесуточной частоты стула (ЧС) и среднесуточной оценки боли в области живота (БЖ). Реакция на усталость на 12 неделе, определяемая на основе информационной системы для оценки результатов, сообщаемых пациентом (PROMIS). Краткая форма оценки усталости 7a содержит 7 пунктов, которые оценивают тяжесть утомления, причем более высокие баллы указывают на большее утомление.

[0013] В другом аспекте изобретения фармацевтическая композиция содержит выделенное антитело к ИЛ-23, которое имеет последовательности CDR, содержащие (i) аминокислотную последовательность CDR тяжелой цепи SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2 и SEQ ID NO: 3; и (ii) последовательности аминокислот CDR легкой цепи SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5 и SEQ ID NO: 6, необязательно в композиции, содержащей 7,9% (масс./об.) сахарозы, 4,0 мМ гистидина, 6,9 мМ L-гистидина моногидрохлорида моногидрата; 0,053% (масс./об.) полисорбата 80 в фармацевтической композиции; причем разбавитель представляет собой воду в стандартном состоянии.

[0014] Другой аспект способа по изобретению содержит введение фармацевтической композиции, содержащей выделенное антитело к ИЛ-23, которое имеет последовательность аминокислот переменной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 7 и аминокислотную последовательность переменной области легкой цепи SEQ ID NO: 8, необязательно в композиции, содержащей

7,9% (масс./об.) сахарозы, 4,0 мМ гистидина, 6,9 мМ L-гистидина моногидрохлорида моногидрата; 0,053% (масс./об.) полисорбата 80 в фармацевтической композиции; причем разбавитель представляет собой воду в стандартном состоянии.

5 **[0015]** Дополнительный аспект способа по изобретению включает введение фармацевтической композиции, содержащей выделенное антитело к ИЛ-23, которое имеет последовательность аминокислот тяжелой цепи SEQ ID NO: 9 и аминокислотную последовательность легкой цепи SEQ ID NO: 10, необязательно в композиции, содержащей 7,9% (масс./об.) сахарозы, 4,0 мМ гистидина, 6,9 мМ L-гистидина моногидрохлорида моногидрата; 0,053% (масс./об.) полисорбата 80 в фармацевтической композиции; причем разбавитель представляет собой воду в стандартном состоянии.

[0016] В дополнительном варианте осуществления изобретения способ согласно изобретению включает введение фармацевтической композиции, содержащей антитело гуселькумаб (имеющееся в продаже от компании Janssen Biotech, Inc как Tremfya®), необязательно в композиции, содержащей 7,9% (масс./об.) сахарозы, 4,0 мМ гистидина, 6,9 мМ L-гистидина моногидрохлорида моногидрата; 0,053% (масс./об.) полисорбата 80 в фармацевтической композиции; причем разбавитель представляет собой воду в стандартном состоянии.

20 **[0017]** Подробности одного или более вариантов осуществления изобретения изложены в описании ниже. Другие особенности и преимущества будут очевидны из следующего подробного описания, фигур и прилагаемой формулы изобретения.

25

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ГРАФИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ

[0018] Ниже представлено описание фигур.

На **ФИГ. 1** показан схематический обзор исследования, описанного в настоящем документе.

30 На **ФИГ. 2** показаны схемы дозирования для фаз лечения и способы введения исследуемого препарата.

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ ПРЕДПОЧТИТЕЛЬНЫХ ВАРИАНТОВ
ОСУЩЕСТВЛЕНИЯ

[0019] Описанный в настоящем документе способ лечения субъекта, страдающего болезнью Крона, включает введение выделенных рекомбинантных и/или синтетических специфических человеческих антител к ИЛ-23, а также 5 диагностические и терапевтические композиции, способы и устройства.

[0020] В контексте настоящего документа термины «специфическое антитело к ИЛ-23», «антитело к ИЛ-23», «участок антитела» или «фрагмент антитела» и/или «вариант антитела» и т. п. включают любой белок или пептид, который 10 содержит по меньшей мере часть молекулы иммуноглобулина, такую как, без ограничений, по меньшей мере одна определяющая комплементарность (CDR) область тяжелой или легкой цепи, либо ее связывающий лиганд участок, переменная область тяжелой цепи или легкой цепи, константная область тяжелой цепи или легкой цепи, каркасная область или любая их часть, либо по 15 меньшей мере один участок рецептора или связывающего белка ИЛ-23, который можно встраивать в антитело настоящего изобретения. Необязательно такое антитело дополнительно воздействует на специфичный лиганд, например, без ограничений, такое антитело модулирует, снижает, повышает, выступает антагонистом, выступает агонистом, уменьшает, ослабляет, блокирует, 20 ингибирует, уничтожает и/или препятствует по меньшей мере одной активности или связыванию ИЛ-23, либо активности или связыванию рецептора ИЛ-23 *in vitro*, *in situ* и/или *in vivo*. В качестве не имеющего ограничительного характера примера приемлемое антитело к ИЛ-23, его определенный участок или вариант 25 настоящего изобретения может связываться с по меньшей мере одной молекулой ИЛ-23 или ее определенными участками, вариантами или доменами. Приемлемое антитело к ИЛ-23, его определенный участок или вариант также может необязательно влиять на по меньшей мере один вид активности или функции ИЛ-23, например, без ограничений, синтез РНК, ДНК или белка, высвобождение ИЛ-23, сигнализацию рецептора ИЛ-23, расщепление 30 мембранного ИЛ-23, активность ИЛ-23, продукцию и/или синтез ИЛ-23.

[0021] Предполагается, что термин «антитело» будет дополнительно охватывать антитела, фрагменты после расщепления, их определенные участки и варианты, включая миметики антител, или содержать участки антител, которые

имитируют структуру и/или функцию антитела или его определенного фрагмента или участка, включая одноцепочечные антитела и их фрагменты. Функциональные фрагменты включают антигенсвязывающие фрагменты, которые связываются с ИЛ-23 млекопитающего. Например, изобретение охватывает фрагменты антитела, способные связываться с ИЛ-23 или его участками, включая без ограничений фрагменты Fab (например, после расщепления папаином), Fab' (например, после расщепления пепсином и частичного восстановления) и F(ab')₂ (например, после расщепления пепсином), Fabc (например, после расщепления плазмином), pFc' (например, после расщепления пепсином или плазмином), Fd (например, после расщепления пепсином, частичного восстановления и реагрегации), Fv или scFv (например, полученные способами молекулярной биологии) (см., например, Colligan, Immunology, выше).

[0022] Такие фрагменты можно получать путем ферментативного расщепления, способами синтеза или рекомбинации, известными в данной области и/или описанными в настоящем документе. Антитела можно также продуцировать в различных укороченных формах с помощью генов антител, в которых один или более стоп-кодонов были введены выше естественного сайта терминации. Например, возможно создание комбинированного гена, кодирующего участок тяжелой цепи F(ab')₂, который может включать последовательности ДНК, кодирующие домен C_{H1} и/или шарнирную область тяжелой цепи. Различные участки антител можно химически соединять обычными способами или можно получать в виде единого белка способами генной инженерии.

[0023] В контексте настоящего документа термин «человеческое антитело» относится к антителу, в котором, по существу, каждая часть белка (например, CDR, каркас, домены C_L, C_H (например, C_{H1}, C_{H2}, C_{H3}), шарнир, домены V_L, V_H) является, по существу, неиммуногенной у человека, лишь с незначительными изменениями или вариациями последовательности. «Человеческое антитело» также может представлять собой антитело, которое получено из последовательностей иммуноглобулина зародышевой линии человека, или близко соответствует им. Человеческие антитела могут включать остатки аминокислот, не кодируемые последовательностями иммуноглобулина зародышевой линии (например, мутации, введенные случайным или сайт-

специфичным мутагенезом *in vitro*, или соматической мутацией *in vivo*). Часто это означает, что человеческое антитело является, по существу, неиммуногенным у человека. Человеческие антитела классифицируют в группы на основании сходства их аминокислотных последовательностей. Таким образом, посредством поиска по сходству последовательностей можно выбрать антитело со сходной линейной последовательностью в качестве шаблона для создания человеческого антитела. Аналогично антитела определенного примата (обезьяна, павиан, шимпанзе и т. д.), грызуна (мышь, крыса, кролик, морская свинка, хомяк и т. п.) и других млекопитающих определяют особенностями антител такого вида, подрода, рода, подсемейства и семейства. Химерные антитела могут дополнительно включать любую комбинацию, указанную выше. Из-за таких изменений или вариаций необязательно и предпочтительно сохраняется или ослабевает иммуногенность у человека или другого вида относительно немодифицированных антител. Таким образом, человеческое антитело отличается от химерного или гуманизированного антитела.

[0024] Следует отметить, что человеческое антитело может быть произведено не относящимся к человеку животным, либо прокариотической или эукариотической клеткой, которая способна экспрессировать функционально перестроенные гены человеческих иммуноглобулинов (например, тяжелую цепь и/или легкую цепь). Когда человеческое антитело является одноцепочечным антителом, оно может дополнительно содержать линкерный пептид, который отсутствует в нативных человеческих антителах. Например, Fv может содержать линкерный пептид, такой как от двух до около восьми остатков глицина или других аминокислот, который соединяет переменную область тяжелой цепи и переменную область легкой цепи. Считается, что такие линкерные пептиды имеют человеческое происхождение.

[0025] Можно также применять биспецифические, гетероспецифические, гетероконъюгатные или подобные антитела, которые представляют собой моноклональные, предпочтительно человеческие или гуманизированные антитела, обладающие специфичностью связывания с по меньшей мере двумя различными антигенами. В данном случае одна из специфичностей связывания относится по меньшей мере к одному белку ИЛ-23, а другая – к любому другому антигену. Способы получения биспецифических антител известны специалистам в данной области. Обычно рекомбинантная продукция биспецифических антител

основана на коэкспрессии двух пар тяжелая цепь / легкая цепь иммуноглобулинов, причем две тяжелые цепи обладают различными видами специфичности (Milstein and Cuello, Nature 305:537 (1983)). Из-за случайного распределения тяжелых и легких цепей иммуноглобулинов эти гибридомы (квардромы) образуют смесь из 10 различных возможных молекул антител, причем только одна из них имеет правильную биспецифическую структуру. Очистка правильной молекулы, которую обычно выполняют путем аффинной хроматографии, является довольно трудоемким процессом с низким выходом продукта. Аналогичные процедуры описаны, например, в WO 93/08829, патентах США № 6210668, 6193967, 6132992, 6106833, 6060285, 6037453, 6010902, 5989530, 5959084, 5959083, 5932448, 5833985, 5821333, 5807706, 5643759, 5601819, 5582996, 5496549, 4676980, публикациях WO 91/00360, WO 92/00373, EP 03089, Traunecker et al., EMBO J. 10:3655 (1991), Suresh et al., Methods in Enzymology 121:210 (1986), каждая из которых полностью включена в настоящий документ путем ссылки.

[0026] Специфичные к ИЛ-23 антитела (также называемые антителами, специфичными к ИЛ-23) (или антителами к ИЛ-23), используемые в способах и композициях настоящего изобретения, могут необязательно характеризоваться высокой аффинностью связывания с ИЛ-23, причем необязательно и предпочтительно они имеют низкую токсичность. В частности, в настоящем изобретении используют антитело, определенный фрагмент или вариант изобретения, причем отдельные компоненты, такие как вариабельная область, константная область и каркас, по отдельности и/или в совокупности, необязательно и предпочтительно имеют низкую иммуногенность. Антитела, которые можно использовать в изобретении, необязательно характеризуются способностью оказывать лечебное действие на пациентов в течение продолжительного периода с поддающимся измерению ослаблением симптомов и низкой и/или приемлемой токсичностью. Низкая или допустимая иммуногенность и/или высокая аффинность, а также другие приемлемые свойства могут способствовать достижению терапевтических результатов. Под «низкой иммуногенностью» в настоящем документе понимают индукцию значительного повышения уровня антител НАНА (человеческие античеловеческие антитела), НАСА (человеческие антихимерные антитела) или НАМА (человеческие антимышиные антитела) у менее чем около 75% или

предпочтительно у менее чем около 50% получающих лечение пациентов, и/или индукцию низких титров у получающих лечение пациентов (менее приблизительно 300, предпочтительно менее приблизительно 100) по результатам измерения иммуноферментным анализом методом двойных антигенов) (см. публикацию Elliott *et al.*, *Lancet* 344:1125-1127 (1994), которая полностью включена в настоящий документ путем ссылки). Термин «низкая иммуногенность» также можно определить как появление титруемых уровней антител к антителу к ИЛ-23 у пациентов, получавших лечение антителом к ИЛ-23, но у менее 25% получавших лечение пациентов, предпочтительно у менее 10% пациентов, получавших лечение рекомендованной дозой в течение рекомендованного курса терапии в период лечения.

[0027] Термин «безопасный», относящийся к дозе, схеме дозирования, лечению или способу с использованием антитела к ИЛ-23 по настоящему изобретению (например, антитело к ИЛ-23, гуселькумаб), обозначает относительно низкую или уменьшенную частоту и/или низкую или уменьшенную тяжесть связанных с лечением нежелательных явлений (называемых «нежелательными явлениями» (НЯ) или «связанными с лечением нежелательными явлениями» (СЛНЯ)) в результате проведенных клинических исследований, например фазы 2 клинических исследований и ранее, по сравнению со стандартным лечением или с другим препаратом, используемым для сравнения. Нежелательное явление — это неблагоприятное медицинское событие у пациента, которому ввели лекарственный препарат. В частности, термин «безопасный», относящийся к дозе, схеме дозирования или лечению с использованием антитела к ИЛ-23 по настоящему изобретению, означает относительно низкую или уменьшенную частоту и/или низкую или уменьшенную степень тяжести нежелательных явлений, связанных с введением антитела, если такой результат применения антитела к ИЛ-23 считается возможным, вероятным или очень вероятным.

30 Полезные свойства

[0028] Выделенные нуклеиновые кислоты по настоящему изобретению можно использовать для получения по меньшей мере одного антитела к ИЛ-23 или его специфичного варианта, которые можно использовать для измерения или воздействия на клетку, ткань, орган или животное (включая млекопитающих и

человека) для диагностики, мониторинга, модуляции, лечения, ослабления, предотвращения возникновения или уменьшения симптомов болезни Крона.

[0029] Такой способ может включать введение эффективного количества композиции или фармацевтической композиции, содержащей по меньшей мере одно антитело к ИЛ-23, в клетку, ткань, орган, организм животного или пациента, которым требуется такое модулирование, лечение, ослабление, предотвращение или уменьшение симптомов, эффектов или механизмов. Эффективное количество может содержать количество от около 0,001 до 500 мг/кг для однократного (например, болюсного), многократного или непрерывного введения, или для достижения концентрации в сыворотке крови 0,01–5000 мкг/мл при однократном, многократном или непрерывном введении, или любой эффективный интервал или значение, как установлено и определено с применением известных способов, описанных в настоящем документе или известных специалистам в соответствующих областях.

15

Ссылки

[0030] Все цитируемые в настоящем документе публикации или патенты, будь они указаны конкретно или нет, полностью включены в настоящий документ путем ссылки, поскольку они показывают уровень развития на момент настоящего изобретения и/или предоставляют описание и необходимую информацию для настоящего изобретения. К публикациям относятся любые научные или патентные публикации, или любая информация, доступная на любых носителях, включая все форматы записи, электронные и печатные форматы. Следующие ниже источники полностью включены в настоящий документ путем ссылки: Ausubel, et al., ed., Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons, Inc., NY, NY (1987–2001); Sambrook, et al., Molecular Cloning: a Laboratory Manual, 2nd Edition, Cold Spring Harbor, NY (1989); Harlow and Lane, Antibodies, a Laboratory Manual, Cold Spring Harbor, NY (1989); Colligan, et al., eds., Current Protocols in Immunology, John Wiley & Sons, Inc., NY (1994–2001); Colligan et al., Current Protocols in Protein Science, John Wiley & Sons, NY, NY, (1997–2001).

30

Антитела по настоящему изобретению – получение и генерация

[0031] По меньшей мере одно антитело к ИЛ-23, применяемое в способе настоящего изобретения, можно необязательно продуцировать в клеточной линии, смешанной клеточной линии, иммортализованной клетке или клональной популяции иммортализованных клеток, как хорошо известно специалистам в данной области. См., например, публикации Ausubel, et al., ed., Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons, Inc., NY, NY (1987-2001); Sambrook, et al., Molecular Cloning: a Laboratory Manual, 2nd Edition, Cold Spring Harbor, NY (1989); Harlow and Lane, Antibodies, a Laboratory Manual, Cold Spring Harbor, NY (1989); Colligan, et al., eds., Current Protocols in Immunology, John Wiley & Sons, Inc., NY (1994–2001); Colligan et al., Current Protocols in Protein Science, John Wiley & Sons, NY, NY, (1997–2001), каждая из которых полностью включена в настоящий документ путем ссылки.

[0032] Предпочтительное антитело к ИЛ-23 представляет собой гуселькумаб (также называемы CNTO1959), имеющий аминокислотную последовательность вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 7 и аминокислотную последовательность вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 8, а также имеющий аминокислотные последовательности области CDR тяжелой цепи SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2 и SEQ ID NO: 3; и аминокислотные последовательности CDR легкой цепи SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5 и SEQ ID NO: 6. Другие антитела к ИЛ-23 имеют последовательности, перечисленные в настоящем документе, и описаны в патенте США № 7,935,344, содержание которого полностью включено в настоящий документ путем ссылки).

[0033] Человеческие антитела, специфичные к человеческим белкам ИЛ-23 или их фрагментам, можно получать в ответ на соответствующий иммуногенный антиген, такой как выделенный белок ИЛ-23 и/или его участок (включая синтетические молекулы, такие как синтетические пептиды). Другие специфичные или общие антитела млекопитающих можно получать аналогичным образом. Получение иммуногенных антигенов и продукцию моноклонального антитела можно выполнять любым приемлемым способом.

[0034] В одном подходе гибридому продуцируют путем слияния приемлемой иммортализованной клеточной линии (например, клеточной линии миеломы, такой как, без ограничений, Sp2/0, Sp2/0-AG14, NSO, NS1, NS2, AE-1, L.5, L243, P3X63Ag8.653, Sp2 SA3, Sp2 MAI, Sp2 SS1, Sp2 SA5, U937, MLA 144, ACT IV,

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

20 **[0035]** Клетки, продуцирующие антитела, можно также получать из периферической крови или предпочтительно из селезенки или лимфатических узлов человека или других приемлемых животных, которые были иммунизированы интересующим антигеном. Для экспрессии гетерологичной или 25 эндогенной нуклеиновой кислоты, кодирующей антитело, его определенный фрагмент или вариант настоящего изобретения, можно также использовать любую другую приемлемую клетку-хозяина. Слитые клетки (гибридомы) или рекомбинантные клетки можно выделять с помощью селективных условий культивирования или других известных приемлемых способов и клонировать путем предельного разведения или сортировки клеток или других известных 30 способов. Клетки, продуцирующие антитела с требуемой специфичностью, могут быть выбраны с помощью приемлемого анализа (например, ИФА).

[0036] Можно применять другие приемлемые способы продукции или выделения антител требуемой специфичности, включая, без ограничений, способы отбора рекомбинантного антитела из библиотеки пептидов или белков

(например, без ограничений, библиотеки дисплея бактериофагов, рибосом, олигонуклеотидов, РНК, кДНК или т. п.; например, производства компаний Cambridge antibody Technologies, Cambridgeshire, Великобритания; MorphoSys, Martinsreid/Planegg, Германия; Biovation, Aberdeen, Scotland, Великобритания; BioInvent, Lund, Швеция; Dyax Corp., Enzon, Affymax/Biosite; Хома, Berkeley, штат Калифорния, США; Ixsys. См., например, EP 368,684, PCT/GB91/01134; PCT/GB92/01755; PCT/GB92/002240; PCT/GB92/00883; PCT/GB93/00605; US 08/350260 (12.05.94); PCT/GB94/01422; PCT/GB94/02662; PCT/GB97/01835; (CAT/MRC); WO90/14443; WO90/14424; WO90/14430; PCT/US94/1234; WO92/18619; WO96/07754; (Scripps); WO96/13583, WO97/08320 (MorphoSys); WO95/16027 (BioInvent); WO88/06630; WO90/3809 (Dyax); US 4,704,692 (Enzon); PCT/US91/02989 (Affymax); WO89/06283; EP 371 998; EP 550 400; (Хома); EP 229 046; PCT/US91/07149 (Ixsys); или стохастически полученных пептидов или белков — US 5723323, 5763192, 5814476, 5817483, 5824514, 5976862, WO 86/05803, EP 590 689 (Ixsys, предварительная публикация в Applied Molecular Evolution (AME); причем каждая из них включена в настоящий документ путем ссылки)), или способами, основанными на иммунизации трансгенных животных (например, мышей SCID, см. Nguyen et al., Microbiol. Immunol. 41:901-907 (1997); Sandhu et al., Crit. Rev. Biotechnol. 16:95-118 (1996); Eren et al., Immunol. 93:154–161 (1998), причем каждая публикация полностью включена в настоящий документ путем ссылки, как и смежные патенты и заявки), которые способны продуцировать набор человеческих антител, как известно специалистам в данной области и/или описано в настоящем документе. Такие методики включают, без ограничений, рибосомный дисплей (Hanes et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 94:4937–4942 (May 1997); Hanes et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 95:14130–14135 (Nov. 1998)); технологии продукции антител из одиночной клетки (например, способ получения антител из отобранных лимфоцитов (SLAM) (патент США № 5,627,052, Wen et al., J. Immunol. 17:887-892 (1987); Babcook et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 93:7843–7848 (1996)); микрокаплю в геле и проточную цитометрию (Powell et al., Biotechnol. 8:333-337 (1990); One Cell Systems, Cambridge, MA; Gray et al., J. Imm. Meth. 182:155-163 (1995); Kenny et al., Bio/Technol. 13:787-790 (1995)); B-cell selection (Steenbakkers et al., Molec. Biol. Reports 19:125–134 (1994); Jonak et al., Progress Biotech, Vol. 5, In Vitro

Immunization in Hybridoma Technology, Borrebaeck, ed., Elsevier Science Publishers B.V., Amsterdam, Netherlands (1988)).

[0037] Кроме того, можно применять и хорошо известные специалистам в данной области способы конструирования или гуманизации нечеловеческих или человеческих антител. По существу, гуманизированное или модифицированное 5 генной инженерией антитело имеет один или более аминокислотных остатков из источника, не относящегося к человеку, например, без ограничений, мыши, крысы, кролика, приматов (исключая человека) или других млекопитающих. Эти аминокислотные остатки нечеловеческого происхождения заменяют остатками, 10 которые часто называют «импортированными» остатками, поскольку их обычно берут из «импортированных» переменных, константных или других доменов известной человеческой последовательности.

[0038] Описание известных последовательностей Ig человека приведено, например, на веб-сайтах: www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi;
15 www.ncbi.nih.gov/igblast; www.atcc.org/phage/hdb.html; www.mrc-cpe.cam.ac.uk/ALIGNMENTS.php; www.kabatdatabase.com/top.html;
[ftp.ncbi.nih.gov/repository/kabat](ftp://ncbi.nih.gov/repository/kabat); www.sciquest.com; www.abcam.com;
www.antibodyresource.com/onlinecomp.html;
www.public.iastate.edu/~pedro/research_tools.html;
20 www.whfreeman.com/immunology/CH05/kuby05.htm;
www.hhmi.org/grants/lectures/1996/vlab;
www.path.cam.ac.uk/~mrc7/mikeimages.html;
mcb.harvard.edu/BioLinks/Immunology.html; www.immunologylink.com;
pathbox.wustl.edu/~hcenter/index.html; www.appliedbiosystems.com;
25 www.nal.usda.gov/awic/pubs/antibody; www.m.ehime-u.ac.jp/~yasuhito/Elisa.html;
www.biodesign.com; www.cancerresearchuk.org; www.biotech.ufl.edu; www.isac-net.org; baserv.uci.kun.nl/~jraats/links1.html; www.recab.uni-hd.de/immuno.
bme.nwu.edu; www.mrc-cpe.cam.ac.uk;
www.ibt.unam.mx/vir/V_mice.html; http://www.bioinf.org.uk/abs;
30 antibody.bath.ac.uk; www.unizh.ch; www.cryst.bbk.ac.uk/~ubcg07s;
www.nimr.mrc.ac.uk/CC/ccaewg/ccaewg.html;
www.path.cam.ac.uk/~mrc7/humanisation/TAHHP.html;
www.ibt.unam.mx/vir/structure/stat_aim.html;
www.biosci.missouri.edu/smithgp/index.html; www.jerini.de; см. также Kabat et al.,

Sequences of Proteins of Immunological Interest, U.S. Dept. Health (1983), причем каждый из них полностью включен в настоящий документ путем ссылки.

[0039] Как известно специалистам в данной области, такие импортированные последовательности можно применять для снижения иммуногенности или для
5 снижения, усиления или модификации связывания, аффинности, скорости ассоциации, скорости диссоциации, авидности, специфичности, периода полужизни или любой другой приемлемой характеристики. В целом остатки CDR напрямую и в очень значительной степени влияют на связывание с антигеном. Соответственно, сохраняются частично или все нечеловеческие или
10 человеческие последовательности CDR, а нечеловеческие последовательности переменных и константных областей можно заменять человеческими или иными аминокислотами.

[0040] Антитела могут также необязательно быть гуманизированными или сконструированными человеческими антителами с сохранением высокой
15 аффинности к антигену и иных благоприятных биологических свойств. Для достижения этой цели гуманизированные (или человеческие) антитела можно необязательно получать в процессе анализа исходных последовательностей и различных концептуальных гуманизированных продуктов с помощью трехмерных моделей исходных и гуманизированных последовательностей.
20 Трехмерные модели иммуноглобулина являются общедоступными и известными специалистам в данной области. Существуют компьютерные программы, демонстрирующие и отображающие вероятные трехмерные конформационные структуры выбранных потенциальных последовательностей иммуноглобулина. Исследование этих изображений позволяет анализировать вероятную роль
25 остатков в функционировании иммуноглобулиновой последовательности кандидата, т. е. проводить анализ остатков, которые влияют на способность иммуноглобулина-кандидата связывать свой антиген. Таким образом, из типичных совпадающих и импортированных последовательностей можно выбирать и комбинировать остатки каркасной области (FR) так, чтобы получить
30 требуемую характеристику антитела, например повышенную аффинность к целевому (-ым) антигену (-ам).

[0041] Кроме того, человеческое антитело, специфичное к ИЛ-23, применяемое в способе настоящего изобретения, может содержать каркас легкой цепи зародышевой линии человека. В конкретных вариантах осуществления

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

10 **[0042]** В других вариантах осуществления человеческое антитело специфичное к ИЛ-23, применяемое в способе настоящего изобретения, может содержать каркас тяжелой цепи зародышевой линии человека. В конкретных вариантах осуществления этот каркас тяжелой цепи зародышевой линии человека выбран из VH1-18, VH1-2, VH1-24, VH1-3, VH1-45, VH1-46, VH1-58, 15 VH1-69, VH1-8, VH2-26, VH2-5, VH2-70, VH3-11, VH3-13, VH3-15, VH3-16, VH3-20, VH3-21, VH3-23, VH3-30, VH3-33, VH3-35, VH3-38, VH3-43, VH3-48, VH3-49, VH3-53, VH3-64, VH3-66, VH3-7, VH3-72, VH3-73, VH3-74, VH3-9, VH4-28, VH4-31, VH4-34, VH4-39, VH4-4, VH4-59, VH4-61, VH5-51, VH6-1 и VH7-81.

20 **[0043]** В конкретных вариантах осуществления переменная область легкой цепи и/или переменная область тяжелой цепи содержит каркасную область или по меньшей мере участок каркасной области (например, содержащий 2 или 3 подобласти, такие как FR2 и FR3). В определенных вариантах осуществления по меньшей мере FRL1, FRL2, FRL3 или FRL4 является полностью 25 человеческим. В других вариантах осуществления по меньшей мере FRH1, FRH2, FRH3 или FRH4 является полностью человеческим. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере FRL1, FRL2, FRL3 или FRL4 представляет собой последовательность зародышевой линии (например, зародышевой линии человека) или содержит типичные совпадающие 30 последовательности человека для данной каркасной области (широкодоступные из источников известных последовательностей Ig человека, описанных выше). В других вариантах осуществления по меньшей мере FRH1, FRH2, FRH3 или FRH4 представляет собой последовательность зародышевой линии (например, зародышевой линии человека) или содержит типичные совпадающие

последовательности человека для данной каркасной области. В предпочтительных вариантах осуществления каркасная область представляет собой полностью человеческую каркасную область.

[0044] Гуманизацию или конструирование антител настоящего изобретения можно выполнять с помощью любого известного способа, такого как, без ограничений, способ, описанный в: Winter (Jones et al., Nature 321:522 (1986); Riechmann et al., Nature 332:323 (1988); Verhoeven et al., Science 239:1534 (1988)), Sims et al., J. Immunol. 151: 2296 (1993); Chothia and Lesk, J. Mol. Biol. 196:901 (1987), Carter et al., Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 89:4285 (1992); Presta et al., J. Immunol. 151:2623 (1993), патентах США №: 5723323, 5976862, 5824514, 5817483, 5814476, 5763192, 5723323, 5,766886, 5714352, 6204023, 6180370, 5693762, 5530101, 5585089, 5225539; 4816567, PCT: US98/16280, US96/18978, US91/09630, US91/05939, US94/01234, GB89/01334, GB91/01134, GB92/01755; WO90/14443, WO90/14424, WO90/14430, EP 229246, причем каждый полностью включен в настоящий документ путем ссылки, включая приведенные в нем ссылки.

[0045] В определенных вариантах осуществления антитело содержит измененную (например, мутантную) область Fc. Например, в некоторых вариантах осуществления область Fc была изменена для ослабления или усиления эффекторных функций антитела. В некоторых вариантах осуществления область Fc представляет собой изотип, выбранный из IgM, IgA, IgG, IgE или другого изотипа. Альтернативно или дополнительно можно использовать сочетание модификаций аминокислот с одной или более дополнительными модификациями аминокислот, которые изменяют связывание с C1q и/или функцию комплементзависимой цитотоксичности в области Fc молекулы, связывающей ИЛ-23. Особый интерес может представлять такой начальный полипептид, который связывается с C1q и проявляет комплементзависимую цитотоксичность (CDC). Полипептиды с исходной активностью связывания с C1q, необязательно дополнительно обладающие способностью опосредовать CDC, можно модифицировать так, чтобы одна или обе этих активности усиливались. Модификации аминокислот, которые приводят к изменению C1q и/или модифицируют его функцию комплементзависимой цитотоксичности, описаны, например, в публикации WO0042072, которая включена в настоящий документ путем ссылки.

[0046] Как описано выше, можно сконструировать Fc-область человеческого специфичного антитела к ИЛ-23 по настоящему изобретению с измененной эффекторной функцией, например, путем модификации связывания C1q и/или связывания Fc γ R и, таким образом, изменения активности комплементзависимой цитотоксичности (CDC) и/или активности антителозависимой клеточно-опосредованной цитотоксичности (ADCC). «Эффекторные функции» отвечают за активацию или уменьшение биологической активности (например, у субъекта). Примеры эффекторных функций включают, без ограничений: связывание с C1q; КЗЦ; связывание с Fc-рецептором; АЗКЦ; фагоцитоз; угнетение рецепторов клеточной поверхности (например, рецептора В-клеток; BCR) и т. д. Для таких эффекторных функций может потребоваться, чтобы область Fc была объединена со связывающим доменом (например, варибельным доменом антитела), и можно их оценивать с помощью различных анализов (например, анализ связывания Fc, анализ ADCC, анализ CDC и т. д.).

[0047] Например, можно генерировать вариант области Fc человеческого антитела к ИЛ-23 (или к ИЛ-23) с улучшенным связыванием C1q и с улучшенным связыванием Fc γ RIII (например, обладающий и повышенной активностью ADCC, и повышенной активностью CDC). В альтернативном варианте осуществления, если требуется снизить или устранить эту эффекторную функцию, можно конструировать вариантную Fc-область со сниженной активностью CDC и/или со сниженной активностью ADCC. В других вариантах осуществления можно повысить только одну из этих активностей и необязательно также снизить другую активность (например, создать вариант области Fc с повышенной активностью ADCC, но со сниженной активностью CDC, и наоборот).

[0048] Мутации Fc можно также вводить в конструкции для изменения их взаимодействия с неонатальным рецептором Fc (FcRn) и улучшения их фармакокинетических свойств. Была описана коллекция вариантов Fc человека с улучшенным связыванием с FcRn (Shields et al., (2001). High resolution mapping of the binding site on human IgG1 for Fc γ RI, Fc γ RII, Fc γ RIII, and FcRn and design of IgG1 variants with improved binding to the Fc γ R, J. Biol. Chem. 276:6591-6604).

[0049] Другой тип замены аминокислот служит для изменения модели гликозилирования области Fc человеческого антитела, специфичного к ИЛ-23.

Гликозилирование области Fc является, как правило, либо N-связанным, либо O-связанным. N-связанное гликозилирование относится к присоединению углеводной функциональной группы к боковой цепи остатка аспарагина. O-связанное гликозилирование относится к присоединению одного из сахаров: N-ацетилгалактозамина, галактозы или ксилозы, к гидроксиаминокислоте, чаще всего к серину или треонину, хотя также можно воспользоваться 5-гидроксипролином или 5-гидроксилизином. Распознаваемые последовательности для ферментативного присоединения углеводного звена к пептидным последовательностям с боковой цепью аспарагина представляют собой аспарагин-X-серин и аспарагин-X-треонин, причем X — любая аминокислота, за исключением пролина. Таким образом, наличие любой из этих пептидных последовательностей в полипептиде создает потенциальный сайт гликозилирования.

[0050] Модель гликозилирования можно изменять, например, путем удаления одного или более сайтов гликозилирования, находящихся в полипептиде, и/или добавления одного или более сайтов гликозилирования, которые отсутствуют в полипептиде. Добавление сайтов гликозилирования к области Fc человеческого специфичного антитела к ИЛ-23 удобно проводить путем изменения аминокислотной последовательности так, чтобы она содержала одну или более из описанных выше трипептидных последовательностей (для сайтов N-связанного гликозилирования). Иллюстративный вариант гликозилирования имеет замену аминокислотного остатка Asn 297 в тяжелой цепи. Изменение также можно проводить добавлением или заменой одного или более из остатков серина или треонина в последовательности исходного полипептида (для сайтов O-связанного гликозилирования). Кроме того, замена Asn 297 на Ala может приводить к удалению одного из сайтов гликозилирования.

[0051] В некоторых вариантах осуществления человеческое антитело, специфичное к ИЛ-23, настоящего изобретения экспрессируется в клетках, в которых экспрессируется бета-(1,4)-N-ацетилглюкозаминилтрансфераза III (GnT III) так, что GnT III присоединяет GlcNAc к человеческому антителу к ИЛ-23. Способы продукции антител таким путем представлены в WO/9954342, WO/03011878, патентной публикации 20030003097A1 и публикации Umana et al., Nature Biotechnology, 17: 176–180, Feb. 1999; причем каждая из них конкретно полностью включена в настоящий документ путем ссылки.

[0052] Антитело к ИЛ-23 также можно необязательно создавать путем иммунизации трансгенного животного (например, мыши, крысы, хомяка, примата (за исключением человека) и т. п.), способных продуцировать набор человеческих антител, как описано в настоящем документе и/или как известно специалистам в данной области. Клетки, которые продуцируют человеческие антитела к ИЛ-23, можно выделять из организма таких животных и иммортализовать с использованием приемлемых способов, таких как описаны в настоящем документе.

[0053] Трансгенных мышей, которые могут продуцировать набор человеческих антител, связывающихся с человеческими антигенами, можно создавать известными способами (например, без ограничений, описанными в патентах США №: 5,770,428, 5,569,825, 5,545,806, 5,625,126, 5,625,825, 5,633,425, 5,661,016 и 5,789,650, выданных Lonberg *et al.*; выданных Jakobovits *et al.* WO 98/50433, Jakobovits *et al.* WO 98/24893, Lonberg *et al.* WO 98/24884, Lonberg *et al.* WO 97/13852, Lonberg *et al.* WO 94/25585, Kucherlapate *et al.* WO 96/34096, Kucherlapate *et al.* EP 0463 151 B1, Kucherlapate *et al.* EP 0710 719 A1, Surani *et al.* патент США № 5,545,807, Bruggemann *et al.* WO 90/04036, Bruggemann *et al.* EP 0438 474 B1, Lonberg *et al.* EP 0814 259 A2, Lonberg *et al.* GB 2 272 440 A, в Lonberg *et al.* *Nature* 368:856–859 (1994), Taylor *et al.*, *Int. Immunol.* 6(4): 579–591 (1994), Green *et al.*, *Nature Genetics* 7:13–21 (1994), Mendez *et al.*, *Nature Genetics* 15:146–156 (1997), Taylor *et al.*, *Nucleic Acids Research* 20(23):6287–6295 (1992), Tuailon *et al.*, *Proc Natl Acad Sci USA* 90(8):3720–3724 (1993), Lonberg *et al.*, *Int Rev Immunol* 13(1):65–93 (1995) и Fishwald *et al.*, *Nat Biotechnol* 14(7):845–851 (1996), причем все полностью включены в настоящий документ путем ссылки). По существу эти мыши имеют по меньшей мере одну содержащую трансген ДНК из по меньшей мере одного локуса человеческого иммуноглобулина, который функционально перестроен или который можно подвергать функциональной перестройке. Эндогенный локус иммуноглобулина у таких мышей можно разрушать или делетировать, чтобы лишить животное способности продуцировать антитела, кодируемые эндогенными генами.

[0054] Скрининг антител на специфичность связывания со сходными белками или фрагментами удобно проводить с использованием библиотек пептидного дисплея. Данный способ включает скрининг больших наборов пептидов для

выявления отдельных пептидов, имеющих требуемую функцию или структуру.

Скрининг антител в библиотеках пептидного дисплея хорошо известен

специалистам в данной области. Длина отображаемых пептидных

последовательностей может составлять от 3 до 5000 или более аминокислот,

5 зачастую длина составляет 5–100 аминокислот и часто длина составляет от

около 8 до 25 аминокислот. В дополнение к способам получения пептидных

библиотек прямым химическим синтезом было описано несколько способов с

рекомбинантными ДНК. Один из таких способов предусматривает отображение

пептидной последовательности на поверхности бактериофага или клетки.

10 Каждый бактериофаг или клетка содержит нуклеотидную последовательность,

кодирующую конкретную отображаемую пептидную последовательность. Такие

способы описаны в патентных публикациях РСТ № 91/17271, 91/18980, 91/19818

и 93/08278.

[0055] Другие системы для создания пептидных библиотек имеют аспекты как

15 способов химического синтеза *in vitro*, так и рекомбинантных способов. См.

патентные публикации РСТ № 92/05258, 92/14843 и 96/19256. См. также патенты

США № 5,658,754; и 5,643,768. В продаже имеются библиотеки пептидных

дисплеев, векторы и наборы для скрининга таких производителей, как Invitrogen

(Carlsbad, штат Калифорния, США) и Cambridge antibody Technologies

20 (Cambridgeshire, Великобритания). См., например, патенты США № 4704692,

4939666, 4946778, 5260203, 5455030, 5518889, 5534621, 5656730, 5763733,

5767260, 5856456, выданные Enzon; 5223409, 5403484, 5571698, 5837500,

выданные Duax, 5427908, 5580717, выданные Affymax; 5885793, выданный

Cambridge antibody Technologies; 5750373, выданный Genentech, 5618920,

25 5595898, 5576195, 5698435, 5693493, 5698417, выданные Xoma, Colligan,

упомянутое; Ausubel, выше; или Sambrook, выше, каждый из указанных патентов

и публикаций полностью включен в настоящий документ путем ссылки.

[0056] Антитела, применяемые в способе настоящего изобретения, также

можно получать с использованием по меньшей мере одной нуклеиновой

30 кислоты, кодирующей антитело к ИЛ-23, для создания трансгенных животных

или млекопитающих, таких как козы, коровы, лошади, овцы, кролики и т. п.,

которые продуцируют такие антитела в своем молоке. Таких животных можно

создавать с помощью известных способов. См., например, без ограничений,

патенты США № 5,827,690; 5,849,992; 4,873,316; 5,849,992; 5,994,616; 5,565,362;

5,304,489 и т. п., причем каждый из них полностью включен в настоящий документ путем ссылки.

[0057] Антитела, применяемые в способе настоящего изобретения, дополнительно можно получать с использованием по меньшей мере одной нуклеиновой кислоты, кодирующей антитело к ИЛ-23, для создания трансгенных растений и культур клеток растений (например, без ограничения, табака и маиса), которые продуцируют такие антитела, их определенные участки или варианты в органах растений или полученных из них клеточных культурах. В качестве не имеющего ограничительного характера примера трансгенные листья табака, экспрессирующие рекомбинантные белки, успешно использовали для получения больших количеств рекомбинантных белков, например, с использованием индуцируемого промотора. См., например, Cramer et al., *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 240:95-118 (1999) и приведенные в этой публикации ссылки. Кроме того, трансгенный маис использовали для экспрессии белков млекопитающих на уровне промышленного производства, причем их биологическая активность была эквивалентна активности белков, которые продуцировали в других системах рекомбинации или очищали из природных источников. См., например, Hood et al., *Adv. Exp. Med. Biol.* 464:127-147 (1999) и приведенные в этой публикации ссылки. Антитела, включая и фрагменты антител, такие как одноцепочечные антитела (scFv), также продуцировали в больших количествах из семян трансгенных растений, в том числе из семян табака и клубней картофеля. См., например, Conrad et al., *Plant Mol. Biol.* 38:101-109 (1998) и приведенные в этой публикации ссылки. Таким образом, антитела настоящего изобретения можно также продуцировать с использованием трансгенных растений в соответствии с известными способами. См. также, например, Fischer et al., *Biotechnol. Appl. Biochem.* 30:99-108 (Oct., 1999), Ma et al., *Trends Biotechnol.* 13:522-7 (1995); Ma et al., *Plant Physiol.* 109:341-6 (1995); Whitelam et al., *Biochem. Soc. Trans.* 22:940-944 (1994); и приведенные в этих публикациях ссылки. Каждый из вышеуказанных источников полностью включен в настоящий документ путем ссылки.

[0058] Антитела, применяемые в способе настоящего изобретения, могут связываться с человеческим ИЛ-23 в широком интервале аффинности (K_D). В предпочтительном варианте осуществления МАТ человека необязательно может связываться с человеческим ИЛ-23 с высокой аффинностью. Например, МАТ

человека может связываться с человеческим ИЛ-23 с показателем K_D , равным или меньшим около 10^{-7} М, например, без ограничений, 0,1–9,9 (или в любом диапазоне, или с любым значением в пределах данного диапазона) $\times 10^{-7}$, 10^{-8} , 10^{-9} , 10^{-10} , 10^{-11} , 10^{-12} , 10^{-13} , или в любом интервале, или с любым значением в нем.

[0059] Аффинность или авидность антитела для антигена можно определять экспериментально любым приемлемым способом (см., например, Berzofsky, *et al.*, *Antibody-Antigen Interactions, Fundamental Immunology*, Paul, W. E., Ed., Raven Press: New York, NY (1984); Kuby, Janis *Immunology*, W. H. Freeman and Company: New York, NY (1992); а также способами, описанными в настоящем документе). Измеренная аффинность конкретного взаимодействия антитело-антиген может изменяться в зависимости от измерения в разных условиях (например, концентрации солей, pH). Таким образом, измерения аффинности и других параметров связывания антигена (например, K_D , K_a , K_d) предпочтительно выполнять в стандартизованных растворах антитела и антигена и в стандартизованном буфере, таком как буфер, описанный в настоящем документе.

Молекулы нуклеиновых кислот

[0060] Используя приведенную в настоящем документе информацию, например нуклеотидные последовательности, кодирующие по меньшей мере 70–100% последовательных аминокислот по меньшей мере одной из переменных областей или CDR-областей легкой или тяжелой цепи, описанных в настоящем документе, наряду с другими последовательностями, описанными в настоящем документе, их определенные фрагменты, варианты или консенсусные последовательности, или депонированный вектор, содержащий по меньшей мере одну из этих последовательностей, молекулу нуклеиновой кислоты настоящего изобретения, кодирующую по меньшей мере одно антитело к ИЛ-23, можно получать способами, описанными в настоящем документе или известными специалистам в данной области.

[0061] Молекулы нуклеиновых кислот настоящего изобретения могут иметь форму РНК, такой как мРНК, гяРНК, тРНК или любой другой формы, или форму ДНК, включая, без ограничений, кДНК и геномную ДНК, полученные путем клонирования, путем синтеза или любых их комбинаций. ДНК может быть

трехцепочечной, двухцепочечной, одноцепочечной или комбинированной. Любая часть по меньшей мере одной цепи ДНК или РНК может быть кодирующей цепью, также известной как прямая цепь, или не кодирующей цепью, также называемой обратной цепью.

- 5 **[0062]** Выделенные молекулы нуклеиновых кислот, применяемые в способе настоящего изобретения, могут включать молекулы нуклеиновых кислот, содержащие открытую рамку считывания (ORF), необязательно с одним или более интронов, например, без ограничений, для по меньшей мере одного
- 10 определенного участка по меньшей мере одной CDR, такой как CDR1, CDR2 и/или CDR3 по меньшей мере одной тяжелой цепи или легкой цепи; молекулы нуклеиновых кислот, содержащие кодирующую последовательность для антитела к ИЛ-23 или вариабельной области; и молекулы нуклеиновых кислот, которые содержат последовательность нуклеотидов, по существу отличающуюся от нуклеотидных последовательностей, описанных выше, но которая, тем не
- 15 менее, вследствие вырожденности генетического кода кодирует по меньшей мере одно антитело к ИЛ-23, как описано в настоящем документе и/или известно специалистам в данной области. Разумеется, генетический код хорошо известен специалистам в данной области. Следовательно, для специалиста будет стандартной процедурой создание подобных вырожденных вариантов
- 20 нуклеиновых кислот, кодирующих специфичные антитела к ИЛ-23, применяемые в способе настоящего изобретения. См., например, Ausubel, et al., выше, и такие варианты нуклеиновых кислот включены в настоящее изобретение. Не имеющие ограничительного характера примеры выделенных молекул нуклеиновых кислот включают нуклеиновые кислоты, кодирующие
- 25 соответственно HC CDR1, HC CDR2, HC CDR3, LC CDR1, LC CDR2 и LC CDR3.
- [0063]** Как указано в настоящем документе, молекулы нуклеиновых кислот, которые содержат нуклеиновую кислоту, кодирующую антитело к ИЛ-23, могут включать, без ограничений, молекулу, отдельно кодирующую аминокислотную последовательность фрагмента антитела; кодирующую последовательность для
- 30 полноразмерного антитела или его участка; кодирующую последовательность для антитела, фрагмента или участка, а также дополнительные последовательности, такие как кодирующая последовательность по меньшей мере для одного сигнального лидерного или слитого пептида при наличии или в отсутствие вышеуказанных дополнительных кодирующих последовательностей,

таких как по меньшей мере один интрон, вместе с дополнительными некодирующими последовательностями, включающими без ограничений некодирующие 5'- и 3'-последовательности, такие как транскрибируемые нетранслируемые последовательности, которые участвуют в транскрипции, процессинге мРНК, включая сигналы сплайсинга и полиаденилирования (например, связывание рибосом и стабильность мРНК); дополнительную кодирующую последовательность, которая кодирует дополнительные аминокислоты, такие как аминокислоты, которые обеспечивают дополнительную функциональность. Таким образом, кодирующая антитело последовательность может быть слита с маркерной последовательностью, такой как последовательность, кодирующая пептид, что облегчает очистку слитого антитела, содержащего фрагмент или участок антитела.

Селективная гибридизация полинуклеотидов с описанным в настоящем документе полинуклеотидом

[0064] В способе настоящего изобретения применяют выделенные нуклеиновые кислоты, которые в условиях селективной гибридизации образуют гибридный полинуклеотид, описанный в настоящем документе. Таким образом, полинуклеотиды настоящего варианта осуществления можно применять для выделения, обнаружения и/или количественного определения нуклеиновых кислот, содержащих такие полинуклеотиды. Например, полинуклеотиды настоящего изобретения можно использовать для идентификации, выделения или амплификации частичных или полноразмерных клонов в депонированной библиотеке. В некоторых вариантах осуществления полинуклеотиды представляют собой последовательности геномной ДНК или кДНК, выделенные или иным образом комплементарные к кДНК из библиотеки нуклеиновых кислот человека или млекопитающего.

[0065] Библиотека кДНК предпочтительно содержит по меньшей мере 80% полноразмерных последовательностей, более предпочтительно по меньшей мере 85% или 90% полноразмерных последовательностей и наиболее предпочтительно по меньшей мере 95% полноразмерных последовательностей. Библиотеки кДНК можно нормализовать для увеличения представительства редких последовательностей. Для последовательностей с низкой или умеренной идентичностью относительно комплементарных последовательностей

гибридизацию обычно, но не исключительно осуществляют в условиях низкой или умеренной жесткости. Для последовательностей с большей идентичностью необязательно применяют условия средней и высокой жесткости. Условия низкой жесткости допускают селективную гибридизацию последовательностей с 5 уровнем идентичности около 70%, и их можно применять для идентификации ортологических или паралогических последовательностей.

[0066] Необязательно полинуклеотиды будут кодировать по меньшей мере участок антитела. Полинуклеотиды охватывают последовательности нуклеотидов, которые можно использовать для селективной гибридизации с 10 полинуклеотидом, кодирующим антитело настоящего изобретения. См., например, Ausubel, выше; Colligan, выше, каждая публикация полностью включена в настоящий документ путем ссылки.

Конструирование нуклеиновых кислот

15 **[0067]** Как хорошо известно специалистам в данной области, выделенные нуклеиновые кислоты можно получать с помощью (a) способов рекомбинации, (b) способов синтеза, (c) способов очистки и/или (d) их сочетаний.

[0068] Нуклеиновые кислоты могут для удобства содержать последовательности, дополнительные к полинуклеотиду настоящего 20 изобретения. Например, в нуклеиновую кислоту можно встраивать сайт множественного клонирования, содержащий один или более сайтов эндонуклеазной рестрикции, чтобы облегчить выделение полинуклеотида. Кроме того, можно встраивать транслируемые последовательности, чтобы облегчить выделение транслированного полинуклеотида настоящего изобретения. К 25 примеру, удобным средством очистки белков настоящего изобретения служит введение последовательности маркера гексагистидина. Нуклеиновая кислота по настоящему изобретению, за исключением кодирующей последовательности, может необязательно представлять собой вектор, адаптер или линкер для клонирования и/или экспрессии полинуклеотида настоящего изобретения.

30 **[0069]** В такие клонирующие и/или экспрессионные последовательности можно добавлять дополнительные последовательности, чтобы оптимизировать их функцию при клонировании и/или экспрессии, способствовать выделению полинуклеотида или улучшать введение полинуклеотида в клетку.

Использование векторов клонирования, экспрессионных векторов, адаптеров и

линкеров хорошо известно специалистам в данной области (см., например, Ausubel выше; или Sambrook, выше).

Рекомбинантные способы конструирования нуклеиновых кислот

5 **[0070]** Композиции выделенных нуклеиновых кислот, таких как РНК, кДНК, геномная ДНК или любая их комбинация, можно получать из биологических источников с помощью любого числа способов клонирования, известных
10 специалистам в данной области. В некоторых вариантах осуществления для идентификации желательной последовательности в библиотеке кДНК или геномной ДНК используют олигонуклеотидные зонды, которые селективно
гибридизуются в жестких условиях с полинуклеотидами настоящего изобретения. Выделение РНК и конструирование библиотек кДНК и геномных библиотек хорошо известно специалистам в данной области. (см., например, Ausubel выше; или Sambrook, выше).

15

Способы скрининга и выделения нуклеиновых кислот

[0071] Скрининг библиотеки кДНК или геномной ДНК можно проводить с помощью зонда на основе последовательности полинуклеотида, применяемого в
20 способе настоящего изобретения, такого как описанные в настоящем документе. Зонды можно использовать для гибридизации с последовательностями геномной ДНК или кДНК, чтобы выделять гомологичные гены в тех же самых или разных организмах. Специалисты в данной области поймут, что для анализа можно использовать различные степени строгости гибридизации; и что жесткой может
25 быть либо гибридизация, либо среда для отмывки. По мере того как условия гибридизации становятся более жесткими, требуемая для образования дуплекса степень комплементарности между зондом и мишенью возрастает. Жесткость условий можно контролировать одним или более из следующих параметров: температура, ионная сила, рН и присутствие частично денатурирующего
30 растворителя, такого как формамид. Например, жесткость условий гибридизации обычно изменяют путем смены полярности раствора реагентов, например посредством изменения концентрации формамида в интервале от 0 до 50%. Степень комплементарности (идентичности последовательностей), необходимая для детектируемого связывания, варьирует в соответствии с жесткостью среды для гибридизации и/или среды для отмывки. Оптимальная степень

комплементарности составляет 100%, или 70–100%, или любой интервал, или значение в нем. Однако следует понимать, что небольшие вариации последовательностей в зондах и праймерах возможно компенсировать путем уменьшения строгости среды гибридизации и/или среды для промывания.

5 **[0072]** Способы амплификации РНК или ДНК хорошо известны специалистам в данной области и могут применяться в соответствии с настоящим изобретением без лишних экспериментов на основании представленных в настоящем документе инструкций и рекомендаций.

10 **[0073]** Известные способы амплификации ДНК или РНК включают, без ограничений, полимеразную цепную реакцию (ПЦР) и связанные с ней процессы амплификации (см., например, патенты США №№ 4,683,195, 4,683,202, 4,800,159, 4,965,188, выданные Mullis, et al.; 4,795,699 и 4,921,794, выданные Tabor, et al; 5,142,033, выданный Innis; 5,122,464, выданный Wilson, et al.; 5,091,310, выданный Innis; 5,066,584, выданный Gyllensten, et al; 4,889,818, 15 выданный Gelfand, et al; 4,994,370, выданный Silver, et al; 4,766,067, выданный Biswas; 4,656,134, выданный Ringold), и опосредованную РНК амплификацию, в которой используют в качестве матрицы для синтеза двухцепочечной ДНК обратную РНК к последовательности-мишени (патент США № 5,130,238, выданный Malek, et al, с торговым названием NASBA), полное содержание всех 20 этих ссылок включено в настоящий документ путем ссылки (см., например, Ausubel выше; или Sambrook, выше).

[0074] Например, технологию полимеразной цепной реакции (ПЦР) можно использовать для амплификации последовательностей полинуклеотидов, применяемых в способе по настоящему изобретению, и связанных с ними генов 25 прямо из библиотек геномной ДНК или кДНК. ПЦР и другие способы амплификации *in vitro* можно также использовать, например, для клонирования последовательностей нуклеотидов, кодирующих белки, которые требуется экспрессировать, чтобы применять зонды нуклеиновых кислот для обнаружения наличия желательной мРНК в пробах, секвенирования нуклеиновых кислот или 30 иных целей. Примеры способов, достаточные для определения специалистам в данной области способов амплификации *in vitro*, можно найти в Berger, выше, Sambrook, выше, и Ausubel, выше, а также в Mullis, et al., патенте США № 4,683,202 (1987); и Innis, et al., PCR Protocols: a Guide to Methods and Applications, Eds., Academic Press Inc., San Diego, CA (1990). Имеющиеся в

продаже наборы для амплификации геномной последовательности ПЦР известны специалистам в данной области. См., например, набор Advantage-GC Genomic PCR Kit (Clontech). Кроме того, возможно использование, например, белка 32 гена T4 (Boehringer Mannheim) для увеличения выхода реакции при ПЦР длинных фрагментов.

Синтетические способы конструирования нуклеиновых кислот

[0075] Выделенные нуклеиновые кислоты, применяемые в способе по настоящему изобретению, также можно получать прямым химическим синтезом с помощью известных способов (см., например, Ausubel, et al., выше). Химическим синтезом, по существу, получают одноцепочечный олигонуклеотид, который можно преобразовать в двухцепочечную ДНК путем гибридизации с комплементарной последовательностью либо полимеризации с ДНК-полимеразой и одиночной цепью в качестве матрицы. Специалистам в данной области известно, что химический синтез ДНК может ограничиваться последовательностями длиной в 100 или более оснований, однако можно лигировать короткие последовательности, получая более длинные последовательности.

Кассеты рекомбинантной экспрессии

[0076] В настоящем изобретении применяются кассеты рекомбинантной экспрессии, содержащие нуклеиновую кислоту. Последовательность нуклеотидов, например последовательность кДНК или геномную последовательность, кодирующую антитело для применения в способе настоящему изобретению, можно использовать для конструирования кассеты рекомбинантной экспрессии, которую можно вводить по меньшей мере в одну желаемую клетку-хозяина. Кассета рекомбинантной экспрессии, как правило, содержит полинуклеотид, функционально связанный с регуляторными последовательностями инициации транскрипции, которые направляют трансляцию полинуклеотида в предназначенной для нее клетке-хозяине. Для направления экспрессии нуклеиновых кислот могут применяться как гетерологичные, так и негетерологичные (т. е. эндогенные) промоторы.

[0077] В некоторых вариантах осуществления выделенные нуклеиновые кислоты, которые служат в качестве промотора, энхансера или других

элементов, можно встраивать в соответствующее положение (выше, ниже или в интроне) негетерологичной формы полинуклеотида по настоящему изобретению таким образом, чтобы стимулировать или подавлять экспрессию полинуклеотида. Например, эндогенные промоторы можно изменять *in vivo* или *in vitro* путем мутации, делеции и/или замены.

Векторы и клетки-хозяева

[0078] Настоящее изобретение также относится к векторам, которые включают в себя выделенные молекулы нуклеиновых кислот, клеткам-хозяевам, которые получены способами генной инженерии с рекомбинантными векторами, и к получению по меньшей мере одного антитела к ИЛ-23 с помощью рекомбинантных способов, которые хорошо известны в данной области. См., например, Sambrook et al., упомянутое; Ausubel, et al., упомянутое; причем каждая публикация полностью включена в настоящий документ путем ссылки.

[0079] Полинуклеотиды можно необязательно соединять с вектором, содержащим селективный маркер для размножения в организме-хозяине. По существу плазмидный вектор вводят в осадок, такой как осадок фосфата кальция, или в комплекс с заряженным липидом. Если в качестве вектора используют вирус, его можно упаковывать *in vitro* с помощью приемлемой упаковочной клеточной линии и впоследствии вводить внутрь клеток-хозяев.

[0080] Вставку ДНК необходимо функционально связывать с пригодным промотором. Экспрессионные конструкции дополнительно содержат сайты для инициации и терминации транскрипции, а в транскрибируемой области — сайт связывания рибосомы для трансляции. Кодированный участок зрелых транскриптов с экспрессией конструктами предпочтительно содержит иницирующий трансляцию в начале и терминирующий кодон (например, UAA, UGA или UAG), надлежащим образом расположенный в конце транслируемой мРНК, причем для экспрессии клеток млекопитающих или эукариот предпочтительны UAA и UAG.

[0081] Экспрессионные векторы предпочтительно, но необязательно включают по меньшей мере один селективный маркер. Такие маркеры включают, например, без ограничений, гены устойчивости к метотрексату (MTX), дигидрофолатредуктазе (DHFR, патенты США № 4,399,216; 4,634,665; 4,656,134; 4,956,288; 5,149,636; 5,179,017, ампициллину, неомицину (G418),

микофеноловой кислоте или глутаминсинтетазе (GS) (патенты США № 5,122,464; 5,770,359; 5,827,739) для культуры эукариотических клеток и гены устойчивости к тетрациклину или ампициллину для культивирования в *E. coli* и других бактериях или прокариотах (вышеуказанные патенты полностью включены в настоящий документ путем ссылки). Пригодные культуральные среды и условия для вышеуказанных клеток-хозяев известны в данной области. Приемлемые векторы, разумеется, известны специалистам в данной области. Введение векторного конструкта в клетку-хозяина можно осуществлять путем трансфекции посредством фосфата кальция, DEAE-декстрана, катионных липидов, электропорации, трансдукции, инфекции или других известных способов. Такие способы описаны в данной области, например, в Sambrook, упомянутое, главы 1–4 и 16–18; Ausubel, упомянутое, главы 1, 9, 13, 15, 16.

[0082] По меньшей мере одно антитело, применяемое в способе настоящего изобретения, можно экспрессировать в модифицированной форме, такой как гибридный белок, и оно может включать не только сигналы секреции, но также и дополнительные гетерологичные функциональные области. Например, к N-концу антитела можно добавлять область дополнительных аминокислот, особенно заряженные аминокислоты, для повышения стабильности и персистенции антитела в клетке-хозяине, а также в ходе очистки или в ходе последующих манипуляций и хранения. Кроме того, к антителу настоящего изобретения для упрощения очистки можно добавлять пептидные звенья. Такие области можно удалять перед получением антитела или по меньшей мере одного его фрагмента. Такие способы описаны в многочисленных стандартных лабораторных руководствах, например, Sambrook, упомянутое, главы 17.29–17.42 и 18.1–18.74; Ausubel, упомянутое, главы 16, 17 и 18.

[0083] Специалисты в данной области знают множество экспрессирующих систем, доступных для экспрессии нуклеиновой кислоты, кодирующей белок, применяемый в способе настоящего изобретения. В альтернативном варианте осуществления нуклеиновые кислоты можно экспрессировать в клетке-хозяине путем запуска (путем процедуры) в клетке-хозяине, которая содержит эндогенную ДНК, кодирующую антитело. Такие способы хорошо известны специалистам в данной области, например, описаны в патентах США № 5,580,734, 5,641,670, 5,733,746 и 5,733,761, полностью включенных в настоящий документ путем ссылки.

[0084] Примером клеточных культур, используемых для получения антител, их определенных участков или вариантов, являются клетки млекопитающих. Системы клеток млекопитающих часто используют в виде монослоев клеток, однако можно также использовать суспензии клеток млекопитающих или биореакторы. В данной области разработано несколько приемлемых линий клеток-хозяев, способных экспрессировать интактные гликозилированные белки, в частности линии клеток COS-1 (например, ATCC CRL 1650), COS-7 (например, ATCC CRL-1651), HEK293, BHK21 (например, ATCC CRL-10), CHO (например, ATCC CRL 1610) и BSC-1 (например, ATCC CRL-26), клетки Cos-7, клетки CHO, клетки her G2, клетки P3X63Ag8.653, SP2/0-Ag14, 293, клетки HeLa и т. п., например, производства Американской коллекции типовых культур, г. Манассас, штат Вирджиния, США (www.atcc.org). Предпочтительные клетки-хозяева включают клетки лимфоидного происхождения, такие как миеломные и лимфомные клетки. Более предпочтительны клетки-хозяева P3X63Ag8.653 (каталожный номер ATCC CRL-1580) и клетки SP2/0-Ag14 (каталожный номер ATCC CRL-1851). В особенно предпочтительном варианте осуществления рекомбинантная клетка представляет собой клетку линий P3X63Ab8.653 или SP2/0-Ag14.

[0085] Экспрессионные векторы для этих клеток могут включать одну или более из следующих последовательностей для контроля экспрессии, таких как, без ограничений, точка начала репликации; промотор (например, поздние или ранние промоторы SV40, промотор CMV (патенты США № 5,168,062; 5,385,839), промотор HSV tk, промотор pgk (фосфоглицераткиназа), промотор EF-1-альфа (патент США № 5,266,491), по меньшей мере один промотор человеческого иммуноглобулина; энхансер и/или информационные сайты для процессинга, такие как сайты связывания рибосом, сайты сплайсинга РНК, сайты полиаденилирования (например, сайт присоединения поли-А большого Т-Ag SV40) и последовательности терминаторов транскрипции. См., например, Ausubel et al., упомянутое; Sambrook et al., упомянутое. Для продукции нуклеиновых кислот или белков настоящего изобретения используют и другие известные и/или поставляемые клетки, например, по каталогу «Американская коллекция типовых культур клеточных линий и гибридом» (www.atcc.org), либо из других известных или коммерческих источников.

[0086] В случае использования эукариотических клеток-хозяев в вектор, как правило, встраивают последовательности полиаденилирования или терминации транскрипции. Например, в качестве последовательности терминации можно использовать последовательность полиаденилирования из гена бычьего гормона роста. Возможно также добавление последовательностей для точного сплайсинга транскрипта. Примером последовательности сплайсинга служит интрон VP1 из SV40 (Sprague, et al., J. Virol. 45:773-781 (1983)). Кроме того, в вектор можно добавлять последовательности генов для контроля репликации в клетке-хозяине, известные в данной области.

10

Очистка антитела

[0087] Антитело к ИЛ-23 может быть выделено и очищено из рекомбинантных клеточных культур хорошо известными способами, включающими, без ограничений: очистку на белке А, осаждение сульфатом аммония или спиртом, экстрагирование кислотой, анионо- или катионообменную хроматографию, хроматографию на фосфоцеллюлозе, гидрофобную хроматографию, аффинную хроматографию, хроматографию на гидроксилпатите и хроматографию на лектине. Для очистки можно также использовать высокоэффективную жидкостную хроматографию (ВЭЖХ). См., например, Colligan, Current Protocols in Immunology, или Current Protocols in Protein Science, John Wiley & Sons, NY, NY, (1997–2001), например, главы 1, 4, 6, 8, 9, 10, причем каждая полностью включена в настоящий документ путем ссылки.

15

20

[0088] Антитела, применяемые в способе настоящего изобретения, включают очищенные естественным путем продукты, продукты химического синтеза и продукты, получаемые при помощи рекомбинантных технологий из эукариотических клеток-хозяев, включая, например, клетки дрожжей, высших растений, насекомых и млекопитающих. В зависимости от хозяина, используемого в способе рекомбинантной продукции, антитело может быть гликозилированным или может быть негликозилированным, причем гликозилированное антитело является предпочтительным. Такие способы описаны в многочисленных стандартных лабораторных руководствах, например Sambrook, упомянутое, разделы 17.37–17.42; Ausubel, упомянутое, главы 10, 12,

30

13, 16, 18 и 20, Colligan, Protein Science, упомянутое, главы 12–14, причем все публикации полностью включены в настоящий документ путем ссылки.

Антитела к ИЛ-23.

5 **[0089]** Антитело к ИЛ-23 по настоящему изобретению включает любой белок или пептид, содержащий молекулу, которая содержит по меньшей мере часть молекулы иммуноглобулина, такую как, без ограничения, по меньшей мере один связывающий лиганд участок (LBP), такой как, без ограничения, определяющая комплементарность область (CDR) тяжелой или легкой цепи, или ее
10 связывающий лиганд участок, вариабельный участок тяжелой или легкой цепи, каркасную область (например, FR1, FR2, FR3, FR4 или их фрагмент, дополнительно необязательно содержащие по меньшей мере одну замену, вставку или делецию), константную область тяжелой или легкой цепи (например, содержащую по меньшей мере один C_H1, шарнир 1, шарнир 2,
15 шарнир 3, шарнир 4, C_H2 или C_H3, или их фрагмент, дополнительно необязательно содержащие по меньшей мере одну замену, вставку или делецию), или любую их часть, которую можно встроить в антитело. Антитело может включать антитела любого млекопитающего, такого как, без ограничений, человек, мышь, кролик, крыса, грызун, примат, или любую их комбинацию и
20 т. п. или может быть получено из них.

[0090] Выделенные антитела, применяемые в способе по настоящему изобретению, содержат последовательности аминокислот антител, описанных в настоящем документе, кодируемые любым приемлемым полинуклеотидом, или любое выделенное или полученное антитело. Предпочтительно человеческое
25 антитело или связывающий антиген фрагмент связывается с человеческим ИЛ-23 и, таким образом, частично или по существу нейтрализует по меньшей мере один вид биологической активности этого белка. Антитело, или его определенный участок или вариант, которые частично или предпочтительно по существу нейтрализуют по меньшей мере один вид биологической активности
30 по меньшей мере одного белка или фрагмента ИЛ-23, может связывать белок или фрагмент и, таким образом, ингибировать активности, опосредованные связыванием ИЛ-23 с рецептором к ИЛ-23 или с другими зависимыми от ИЛ-23 или опосредованные им механизмами. В контексте настоящего документа термин «нейтрализующее антитело» относится к антителу, которое может

ингибировать зависимую от ИЛ-23 активность на около 20–120%, предпочтительно по меньшей мере на около 10, 20, 30, 40, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 100% или более в зависимости от способа анализа. Способность антитела к ИЛ-23 ингибировать зависимую от ИЛ-23 активность предпочтительно оценивают с помощью по меньшей мере одного приемлемого способа анализа белка ИЛ-23 или его рецептора, как описано в настоящем документе и/или как известно специалистам в данной области.

Человеческое антитело может представлять собой антитело любого класса (IgG, IgA, IgM, IgE, IgD и т. п.) или изотипа и может содержать легкую цепь каппа или лямбда. В одном варианте осуществления человеческое антитело содержит тяжелую цепь или определенный фрагмент IgG, например по меньшей мере один из изотипов IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4 (например, $\gamma 1$, $\gamma 2$, $\gamma 3$, $\gamma 4$). Антитела этого типа можно получать с использованием трансгенной мыши или другого трансгенного не относящегося к человеку млекопитающего, содержащего трансгены по меньшей мере одной человеческой легкой цепи (например, IgG, IgA и IgM), как описано в настоящем документе и/или как известно специалистам в данной области. В другом варианте осуществления человеческое антитело к ИЛ-23 содержит тяжелую цепь IgG1 и легкую цепь IgG1.

[0091] Антитело связывает по меньшей мере один определенный эпитоп, специфичный к по меньшей мере одному белку ИЛ-23, его субъединице, фрагменту, участку или любой их комбинации. По меньшей мере один эпитоп может содержать по меньшей мере одну область связывания с антителом, которая содержит по меньшей мере один участок белка, причем данный эпитоп предпочтительно содержит по меньшей мере один внеклеточный, растворимый, гидрофильный, внешний или цитоплазматический участок белка.

[0092] По существу человеческое антитело или антигенсвязывающий фрагмент содержит антигенсвязывающую область, которая содержит по меньшей мере одну определяющую комплементарность область (CDR1, CDR2 и CDR3) человека или вариант по меньшей мере одной вариабельной области тяжелой цепи и по меньшей мере одной определяющей комплементарность области человека (CDR1, CDR2 и CDR3) или вариант по меньшей мере одной вариабельной области легкой цепи. Последовательности CDR можно получать из последовательностей зародышевой линии человека, или они могут обладать близким сходством с последовательностями зародышевой линии. Например,

можно использовать CDR из синтетической библиотеки, полученной из исходных не относящихся к человеку CDR. Эти CDR можно образовывать из исходной не относящейся к человеку последовательности путем встраивания консервативных замен. В другом конкретном варианте осуществления антитело или антигенсвязывающий участок или вариант может иметь антигенсвязывающую область, которая содержит по меньшей мере участок по меньшей мере одной CDR легкой цепи (т. е. CDR1, CDR2 и/или CDR3), имеющую аминокислотную последовательность, соответствующую CDR 1, 2 и/или 3.

10 **[0093]** Такие антитела можно получать путем химического связывания различных участков (например, CDR, каркасной области) антитела с помощью стандартных способов получения и экспрессии молекулы (т. е. одной или более) нуклеиновой кислоты, которая кодирует антитело, с помощью стандартных способов технологии рекомбинантных ДНК или с помощью другого приемлемого способа.

15 **[0094]** Специфичное антитело к ИЛ-23 может содержать по меньшей мере одну из переменных областей тяжелой или легкой цепи, имеющую определенную аминокислотную последовательность. Например, в предпочтительном варианте осуществления изобретения антитело к ИЛ-23 содержит по меньшей мере одну переменную область тяжелой цепи, необязательно имеющую последовательность аминокислот SEQ ID NO: 7, и/или по меньшей мере одну переменную область легкой цепи, необязательно имеющую последовательность аминокислот SEQ ID NO: 8. В дополнительном предпочтительном варианте осуществления антитела к ИЛ-23 содержит по меньшей мере одну тяжелую цепь, необязательно имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 9, и/или по меньшей мере одну легкую цепь, необязательно имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 10. Антитела, которые связываются с человеческим ИЛ-23 и которые содержат определенную переменную область тяжелой или легкой цепи, можно получать приемлемыми способами, такими как способ фагового дисплея (Katsube, Y., *et al.*, *Int J Mol. Med.*, 1(5):863–868 (1998)), или способами, в которых используют трансгенных животных, известных специалистам в данной области и/или описанных в настоящем документе. Например, трансгенную мышь, содержащую функционально перестроенный трансген тяжелой цепи человеческого

иммуноглобулина и трансген, содержащий ДНК локуса легкой цепи человеческого иммуноглобулина, который может подвергаться функциональной перестройке, можно иммунизировать человеческим ИЛ-23 или его фрагментом, чтобы вызывать продукцию антител. Если требуется, можно выделять клетки, продуцирующие антитела, и можно получать гибридомы или другие им-
5 им-мортиализованные клетки, продуцирующие антитела, как описано в настоящем документе и/или известно специалистам в данной области. В альтернативном варианте осуществления антитело, определенный участок или вариант можно экспрессировать в приемлемой клетке-хозяине с помощью кодирующей
10 нуклеиновой кислоты или ее участка.

[0095] Изобретение также относится к антителам, антигенсвязывающим фрагментам, цепям иммуноглобулина и областям CDR, содержащим аминокислоты в последовательности, по существу, совпадающей с аминокислотной последовательностью антитела, описанной в настоящем
15 документе. Предпочтительно такие антитела или связывающие антиген фрагменты и антитела, содержащие такие цепи или области CDR, могут связываться с человеческим ИЛ-23 с высокой аффинностью (например, с K_D менее или равной около 10^{-9} М). Аминокислотные последовательности, по существу, совпадающие с последовательностями, описанными в настоящем
20 документе, включают последовательности, содержащие консервативные аминокислотные замены, а также делеции и/или вставки аминокислот. Консервативной аминокислотной заменой называется замена первой аминокислоты на вторую аминокислоту, физические и/или химические свойства которой (например, заряд, структура, полярность,
25 гидрофобность/гидрофильность) сходны со свойствами первой аминокислоты. Консервативные замены включают, без ограничений, замену одной аминокислоты на другую в пределах следующих групп: лизин (K), аргинин (R) и гистидин (H); аспартат (D) и глутамат (E); аспарагин (N), глутамин (Q), серин (S), треонин (T), тирозин (Y), K, R, H, D и E; аланин (A), валин (V), лейцин (L),
30 изолейцин (I), пролин (P), фенилаланин (F), триптофан (W), метионин (M), цистеин (C) и глицин (G); F, W и Y; C, S и T.

Коды аминокислот

[0096] Аминокислоты, составляющие антитела к ИЛ-23 настоящего изобретения, часто обозначают аббревиатурами. Наименования аминокислот можно обозначать с помощью однобуквенного кода аминокислоты,

5 трехбуквенного кода, названия или кодона (-ов) из трех нуклеотидов, что хорошо известно специалистам в данной области (см. Alberts, B., et al., *Molecular Biology of The Cell*, Third Ed., Garland Publishing, Inc., New York, 1994).

ОДНОБУК- ВЕННЫЙ КОД	ТРЕХБУКВЕН- НЫЙ КОД	НАЗВАНИЕ	КОДОН (-Ы) ИЗ ТРЕХ НУКЛЕОТИДОВ
A	Ala	Аланин	GCA, GCC, GCG, GCU
C	Cys	Цистеин	UGC, UGU
D	Asp	Аспарагиновая кислота	GAC, GAU
E	Glu	Глутаминовая кислота	GAA, GAG
F	Phe	Фенилаланин	UUC, UUU
G	Gly	Глицин	GGA, GGC, GGG, GGU
H	His	Гистидин	CAC, CAU
I	Ile	Изолейцин	AUA, AUC, AUU
K	Lys	Лизин	AAA, AAG
L	Leu	Лейцин	UUA, UUG, CUA, CUC, CUG, CUU
M	Met	Метионин	AUG
N	Asn	Аспарагин	AAC, AAU
P	Pro	Пролин	CCA, CCC, CCG, CCU
Q	Gln	Глутамин	CAA, CAG
R	Arg	Аргинин	AGA, AGG, CGA, CGC, CGG, CGU
S	Ser	Серин	AGC, AGU, UCA, UCC, UCG, UCU
T	Thr	Треонин	ACA, ACC, ACG, ACU
V	Val	Валин	GUA, GUC, GUG, GUU
W	Trp	Триптофан	UGG
Y	Tyr	Тирозин	UAC, UAU

[0097] Антитело к ИЛ-23, применяемое в способе настоящего изобретения, может включать одну или более замен, делеций или добавлений аминокислот вследствие естественных мутаций либо действий человека, описанных в настоящем документе.

5 **[0098]** Число аминокислотных замен, которое может произвести квалифицированный специалист, зависит от многих факторов, включая описанные выше. Вообще говоря, число замен, вставок или делеций аминокислот любого данного антитела к ИЛ-23, фрагмента или варианта будет составлять не более 40, 30, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4,
10 3, 2, 1, например 1–30, или любой интервал, или значение в нем, как указано в настоящем документе.

[0099] Специалисты в данной области могут идентифицировать аминокислоты в специфичном антителе к ИЛ-23, которые необходимы для его функции, известными способами, такими как сайт-направленный мутагенез или
15 сканирующий аланином мутагенез (например, Ausubel, см. выше, главы 8, 15; Cunningham and Wells, Science 244:1081–1085 (1989)). Последняя процедура предполагает добавление точечных мутаций аланина в каждом остатке в молекуле. Затем полученные мутантные молекулы испытывают на
20 биологическую активность, такую как, без ограничения, по меньшей мере одна активность по нейтрализации ИЛ-23. Критичные для связывания с антителом сайты можно также идентифицировать путем анализа структуры, например путем кристаллизации, ядерного магнитного резонанса или фотоаффинного
25 мечения (Smith, et al., J. Mol. Biol. 224:899–904 (1992) и de Vos, et al., Science 255:306–312 (1992)).

[0100] Антитела к ИЛ-23 могут включать без ограничений по меньшей мере один участок, последовательность или комбинацию, выбранные из от 5 до всех последовательных аминокислот из по меньшей мере одной из последовательностей SEQ ID NO: 1, 2, 3, 4, 5 и 6.

[0101] Антитела к ИЛ-23 или определенные участки или варианты могут
30 включать без ограничений по меньшей мере один участок, последовательность или комбинацию, выбранные из по меньшей мере 3–5 последовательных аминокислот указанных выше SEQ ID NO; 5–17 последовательных аминокислот указанных выше SEQ ID NO., 5–10 последовательных аминокислот указанных выше SEQ ID NO., 5–11 последовательных аминокислот указанных выше SEQ ID

NO., 5–7 последовательных аминокислот указанных выше SEQ ID NO; 5–9 последовательно расположенных аминокислот указанных выше SEQ ID NO.

[0102] Антитело к ИЛ-23 может дополнительно необязательно содержать полипептид из по меньшей мере одной из 70–100% из числа 5, 17, 10, 11, 7, 9, 119 или 108 последовательных аминокислот с указанными выше SEQ ID NO. В одном варианте осуществления аминокислотная последовательность цепи иммуноглобулина или ее участок (например, вариабельная область, CDR) имеет идентичность около 70–100% (например, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 100 или любой интервал, или значение в нем) с аминокислотной последовательностью соответствующей цепи по меньшей мере одной из последовательностей SEQ ID NO, указанных выше. Например, аминокислотную последовательность вариабельной области легкой цепи можно сравнивать с последовательностью с указанными выше SEQ ID NO., или аминокислотную последовательность CDR3 тяжелой цепи можно сравнивать с указанными выше SEQ ID NO. 70–100% идентичности аминокислот (например, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 100 или любой интервал, или значение в нем) предпочтительно определяют с помощью приемлемого компьютерного алгоритма, известного специалистам в данной области.

[0103] «Идентичностью», как известно специалистам в данной области, называется соотношение между двумя или более полипептидными последовательностями или двумя или более полинуклеотидными последовательностями, определяемое путем сравнения этих последовательностей. В данной области «идентичность» также означает степень родства последовательностей между полипептидными или полинуклеотидными последовательностями, как определено по сопоставлению цепочек таких последовательностей. «Идентичность» и «подобие» можно легко подсчитать известными способами, включая, без ограничений, описанные в Computational Molecular Biology, Lesk, A. M., ed., Oxford University Press, New York, 1988; Biocomputing: Informatics and Genome Projects, Smith, D. W., ed., Academic Press, New York, 1993; Computer Analysis of Sequence Data, Part I, Griffin, A. M., and Griffin, H. G., eds., Humana Press, New Jersey, 1994; Sequence Analysis in Molecular Biology, von Heinje, G., Academic Press, 1987; и Sequence Analysis Primer, Gribskov, M. and Devereux, J., eds., M Stockton Press, New York, 1991; и

Carillo, H., and Lipman, D., Siam J. Applied Math., 48:1073 (1988). Кроме того, выраженную в процентах идентичность можно получать на основании сопоставлений последовательностей аминокислот и нуклеотидов, сгенерированных с заданными по умолчанию настройками компонента AlignX в пакете программ Vector NTI Suite 8.0 (Informax, г. Фредерик, штат Мэриленд, США).

[0104] Предпочтительные способы определения идентичности предназначены для создания наилучшего соответствия между тестируемыми последовательностями. Способы определения идентичности и подобия систематизированы в общедоступных компьютерных программах.

Предпочтительные компьютерные программные способы определения идентичности и подобия между двумя последовательностями включают, без ограничений, пакет программ GCG (Devereux, J., et al., Nucleic Acids Research 12(1): 387 (1984)), BLASTP, BLASTN и FASTA (Atschul, S. F. et al., J. Molec. Biol. 215:403-410 (1990)). Программа BLAST X общедоступна от NCBI и других источников (BLAST Manual, Altschul, S., et al., NCBI/NIH Bethesda, Md. 20894; Altschul, S., et al., J. Mol. Biol. 215:403-410 (1990)). Для определения идентичности также можно использовать хорошо известный алгоритм Smith Waterman.

[0105] Предпочтительные параметры сравнения полипептидных последовательностей включают следующие: (1) Алгоритм: Needleman and Wunsch, J. Mol Biol. 48:443-453 (1970). Матрица сравнения: BLOSSUM62 из Hentikoff and Hentikoff, Proc. Natl. Acad. Sci., USA. 89:10915-10919 (1992)

Штраф за гэп: 12

Штраф за длину гэта: 4

Программа, используемая с данными параметрами, находится в общем доступе как программа «гэпа» от Genetics Computer Group, Мэдисон, штат Висконсин, США. Указанные выше параметры являются параметрами по умолчанию для сравнений пептидных последовательностей (с отсутствием штрафа за концевые гэпы).

[0106] Предпочтительные параметры для сравнения полинуклеотидов включают следующие:

(1) Алгоритм: Needleman and Wunsch, J. Mol Biol. 48:443-453 (1970).

Матрица сравнения: совпадения=+10, несовпадение=0

Штраф за гэп: 50

Штраф за длину гэта: 3

Доступно как: программа «гэпа» от Genetics Computer Group, Мэдисон, штат Висконсин, США. Указанные параметры являются параметрами по умолчанию для сравнений последовательностей нуклеотидов.

[0107] В качестве примера, полинуклеотидная последовательность может быть идентичной другой последовательности, то есть на 100% идентичной, или может включать до определенного целого числа изменений нуклеотидов по сравнению с эталонной последовательностью. Такие изменения выбирают из группы, состоящей из делеции, замены, включая транзицию и трансверсию, или вставки по меньшей мере одного нуклеотида, и при этом изменения могут иметь место в 5'- или 3'-концевых положениях эталонной последовательности нуклеотидов, или где-нибудь между этими концевыми положениями, и могут быть либо рассеянными поодиночке среди нуклеотидов в эталонной последовательности, либо быть собранными в одну или более последовательных групп в пределах эталонной последовательности. Число изменений нуклеотидов определяют умножением общего числа нуклеотидов в последовательности на число, определяющее соответственный процент идентичности (поделенный на 100), а затем вычитают этот результат из общего числа нуклеотидов в последовательности, или:

$$n \cdot \text{sub.n.ltorsim.x.sub.n} - (x \cdot \text{sub.n.y}),$$

где $n \cdot \text{sub.n}$ — число изменений нуклеотидов, $x \cdot \text{sub.n}$ — общее число нуклеотидов в последовательности, и y равен, например, 0,70 для 70%, 0,80 для 80%, 0,85 для 85%, 0,90 для 90%, 0,95 для 95% и т. п., и при этом любой нецелый результат умножения $x \cdot \text{sub.n}$ на y округляют с уменьшением до ближайшего целого числа, прежде чем вычесть его из $x \cdot \text{sub.n}$.

[0108] Изменения полинуклеотидной последовательности, кодирующей SEQ ID NO выше, могут создавать нонсенс-, миссенс-мутации или мутации сдвига рамки считывания в данной кодирующей последовательности и тем самым изменять полипептид, кодируемый полинуклеотидом, после таких изменений. Аналогичным образом, полипептидная последовательность может быть идентична приведенной выше эталонной последовательности SEQ ID NO, т. е. на 100% идентичной, или может включать в себя до определенного целого числа

изменений аминокислот по сравнению с эталонной последовательностью таким образом, что процент идентичности составляет менее 100%. Такие изменения выбраны из группы, состоящей из делеции, замены, включая консервативную и неконсервативную замену, или вставки по меньшей мере одной аминокислоты, и при этом изменения могут иметь место в положениях на аминном или карбоксильном конце эталонной полипептидной последовательности, или где-нибудь между этими концевыми положениями, и могут быть либо рассеянными поодиночке среди аминокислот в эталонной последовательности, либо быть собранными в одну или более последовательных групп в пределах эталонной последовательности. Число замен аминокислот для данного % идентичности определяют умножением общего числа аминокислот в SEQ ID NO выше на численный процент соответствующей процентной идентичности (поделенный на 100), а затем вычитают это произведение из общего числа аминокислот в SEQ ID NO выше, или:

15 $n \cdot \text{sub.a.ltorsim} \cdot x \cdot \text{sub.a} - (x \cdot \text{sub.a} \cdot y)$,
где $n \cdot \text{sub.a}$ представляет собой число изменений аминокислот, $x \cdot \text{sub.a}$ представляет собой общее число аминокислот в SEQ ID NO, указанных выше, а y составляет, например, 0,70 для 70%, 0,80 для 80%, 0,85 для 85% и т. д., и при этом любое нецелое число получения $x \cdot \text{sub.a}$ и y округляют с уменьшением до ближайшего целого числа, прежде чем вычесть его из $x \cdot \text{sub.a}$.

[0109] Примеры последовательностей переменных областей тяжелой и легкой цепей и их участков представлены в вышеуказанных SEQ ID NO. Антитела настоящего изобретения или их определенные варианты могут 25 содержать любое число остатков смежных аминокислот из антитела настоящего изобретения, причем это число выбрано из группы целых чисел в интервале 10–100% от числа последовательных остатков в антителе к ИЛ-23. Длина данной подпоследовательности последовательных аминокислот необязательно составляет по меньшей мере около 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 110, 120, 30 130, 140, 150, 160, 170, 180, 190, 200, 210, 220, 230, 240, 250 или более аминокислот, или любой интервал, или значение в нем. Количество таких подпоследовательностей может дополнительно представлять собой любое целое число, выбранное из группы, состоящей из 1–20, например по меньшей мере 2, 3, 4 или 5.

[0110] Согласно определению специалистов в данной области, настоящее изобретение включает по меньшей мере одно биологически активное антитело настоящего изобретения. Биологически активные антитела обладают удельной активностью, составляющей по меньшей мере 20%, 30% или 40%, и
5 предпочтительно по меньшей мере 50%, 60% или 70%, и наиболее предпочтительно по меньшей мере 80%, 90% или 95–100% или более (включая, без ограничений, вплоть до 10-кратного увеличения удельной активности) от активности нативного (несинтетического), эндогенного или родственного ему и известного антитела. Способы качественного и количественного анализа
10 ферментативной активности и субстратной специфичности хорошо известны специалистам в данной области.

[0111] В другом аспекте изобретение относится к человеческим антителам и антигенсвязывающим фрагментам, как описано в настоящем документе, которые модифицируют путем ковалентного присоединения органической
15 функциональной группы. Такая модификация позволяет создавать антитело или антигенсвязывающий фрагмент с улучшенными фармакокинетическими свойствами (например, увеличенным периодом полужизни *in vivo* в сыворотке). В качестве органической функциональной группы можно использовать
20 линейную или разветвленную гидрофильную полимерную группу, группу жирной кислоты или группу сложного эфира жирной кислоты. В конкретных вариантах осуществления гидрофильная полимерная группа может иметь молекулярную массу от около 800 до около 120 000 дальтон и представлять собой полиалкангликоль (например, полиэтиленгликоль (PEG),
25 полипропиленгликоль (PPG)), углеводный полимер, аминокислотный полимер или поливинилпиролон, а группа жирной кислоты или группа сложного эфира жирной кислоты может содержать от около восьми до около сорока атомов углерода.

[0112] Модифицированные антитела и антигенсвязывающие фрагменты могут содержать одну или более органических звеньев, которые имеют прямую или
30 непрямую ковалентную связь с антителом. Каждая органическая функциональная группа, связанная с антителом или с антигенсвязывающим фрагментом изобретения, может независимо представлять собой гидрофильную полимерную группу, группу жирной кислоты или группу сложного эфира жирной кислоты. В контексте настоящего документа термин «жирная кислота»

охватывает одноосновные и двухосновные карбоновые кислоты. В контексте настоящего документа термин «гидрофильная полимерная группа» обозначает органический полимер, обладающий лучшей растворимостью в воде, чем в октане. Например, полилизин лучше растворяется в воде, чем в октане. Таким образом, антитело, модифицированное путем ковалентного присоединения полилизина, включено в изобретение. Гидрофильные полимеры, приемлемые для модификации антител изобретения, могут быть линейными или разветвленными, и включают, например, полиалкангликоли (например, PEG, монометоксиполиэтиленгликоль (mPEG), PPG и т. п.), углеводы (например, декстран, целлюлозу, олигосахариды, полисахариды и т. п.), полимеры гидрофильных аминокислот (например, полилизин, полиаргинин, полиаспарат и т. п.), оксиды полиалканов (например, полиэтиленоксид, полипропиленоксид и т. п.) и поливинилпирролидон. Гидрофильный полимер, модифицирующий антитело изобретения, предпочтительно имеет молекулярную массу от около 800 до около 150 000 дальтон, как отдельный фрагмент молекулы. Например, PEG₅₀₀₀ и PEG_{20,000}, где нижний индекс означает среднюю молекулярную массу полимера в дальтонах. Гидрофильная полимерная группа может иметь от одного до около шести заместителей — групп алкила, жирной кислоты или сложного эфира жирной кислоты. Гидрофильные полимеры с замещающей группой жирной кислоты или сложного эфира жирной кислоты можно получать с применением приемлемых способов. Например, полимер, содержащий аминогруппу, может быть связан с карбоксилатом жирной кислоты или сложного эфира жирной кислоты, а активированный карбоксилат (например, активированный N,N-карбонилдиимидазолом) на жирной кислоте или сложном эфире жирной кислоты может быть связан с гидроксильной группой полимера.

[0113] Жирные кислоты и сложные эфиры жирных кислот, приемлемые для модификации антител изобретения, могут быть насыщенными или могут содержать одну или более ненасыщенных связей. Жирные кислоты, приемлемые для модификации антител изобретения, включают, например, n-додеcanoат (C₁₂, лаурат), n-тетрадеcanoат (C₁₄, мирилат), n-октадеcanoат (C₁₈, стеарат), n-эйкозаноат (C₂₀, арахидат), n-докозаноат (C₂₂, бегенат), n-триаконтаноат (C₃₀), n-тетрааконтаноат (C₄₀), *цис*-9-октадеcanoат (C₁₈, олеат), полностью *цис*-5,8,11,14-эйкозатетраеноат (C₂₀, арахидонат), октандикарбоновую кислоту, тетрадекандикарбоновую кислоту, октадекандикарбоновую кислоту,

докозандикарбоновую кислоту и т. п. Приемлемые сложные эфиры жирных кислот включают сложные моноэфиры дикарбоновых кислот, содержащие линейную или разветвленную группу низшего алкила. Группа низшего алкила может содержать от одного до около двенадцати, предпочтительно от одного до

5

[0114] Модифицированные человеческие антитела и антигенсвязывающие фрагменты можно получать с помощью приемлемого способа, например путем реакции с одним или более модифицирующими агентами. В контексте настоящего документа термин «модифицирующий агент» относится к

10

приемлемой органической группе (например, гидрофильному полимеру, жирной кислоте, сложному эфиру жирной кислоты), которая содержит активирующую группу. «Активирующая группа» означает химический фрагмент или функциональную группу, которые при подходящих условиях могут вступать в реакцию со второй химической группой и, таким образом, образовывать

15

ковалентную связь между модифицирующим агентом и второй химической группой. Например, к реагирующим с амином активирующим группам относятся электрофильные группы, такие как тозилат, мезилат, галоген (хлор, бром, фтор, йод), сложные эфиры N-гидроксисукцинимидила (NHS) и т. п. Активирующие группы, способные реагировать с тиолами, включают, например, малеимид, йодацетил, акрилолил, дисульфиды пиридила, тиол 5-тиол-2-нитробензойной кислоты (TNB-тиол) и т. п. Функциональная группа альдегида может быть связана с амин- или гидразид-содержащими молекулами, а группа азида может реагировать с трехвалентной фосфорной группой с образованием

20

фосфорамидатных или фосфоримидных связей. Приемлемые способы введения активирующих групп в молекулы известны специалистам в данной области (см., например, Hermanson, G. T., *Bioconjugate Techniques*, Academic Press: San Diego, CA (1996)). Активирующая группа может быть связана с органической группой (например, гидрофильным полимером, жирной кислотой, эфиром жирной

25

кислоты) прямо или через линкерное звено, например двухвалентную группу C₁–C₁₂, в которой один или более атомов углерода могут замещаться гетероатомом, таким как кислород, азот или сера. Приемлемые линкерные звенья включают, например, тетраэтиленгликоль, $-(CH_2)_3-$, $-NH-(CH_2)_6-NH-$, $-(CH_2)_2-NH-$ и $-CH_2-O-CH_2-CH_2-O-CH_2-CH_2-O-CH-NH-$. Модифицирующие агенты, которые содержат линкерную функциональную группу, можно получать, например,

30

путем реакции моно-Вос-алкилдиамин (например, моно-Вос-этилендиамина, моно-Вос-диаминогексана) с жирной кислотой в присутствии 1-этил-3-(3-диметиламинопропил)-карбодиимида (EDC) с образованием амидной связи между свободным амином и карбоксилатом жирной кислоты. Защитную группу Вос можно удалять из продукта путем обработки трифторуксусной кислотой (TFA) с открытием первичного амина, который может быть связан с другим карбоксилатом, как описано выше, или он может вступать в реакцию с малеиновым ангидридом с замыканием полученного продукта в цикл и получением активированного малеимидного производного жирной кислоты (См., например, Thompson, *et al.*, WO 92/16221, содержание полностью включено в настоящий документ путем ссылки).

[0115] Модифицированные антитела можно получать путем реакции человеческого антитела или антигенсвязывающего фрагмента с модифицирующим агентом. Например, органические функциональные группы могут быть связаны с антителом неспецифично к сайту с помощью реагирующего с амином модифицирующего агента, например сложного эфира NHS и PEG. Модифицированные человеческие антитела или антигенсвязывающие фрагменты можно также получать путем восстановления дисульфидных связей (например, внутрицепочечных дисульфидных связей) антитела или антигенсвязывающего фрагмента. Восстановленное антитело или антигенсвязывающий фрагмент может впоследствии взаимодействовать с реагирующим с тиолом модифицирующим агентом с получением модифицированного антитела изобретения. Модифицированные человеческие антитела и антигенсвязывающие фрагменты, содержащие органическую функциональную группу, которая связана с определенными участками антитела настоящего изобретения, можно получать с помощью приемлемых способов, таких как обратный протеолиз (Fisch *et al.*, *Bioconjugate Chem.*, 3: 147–153 (1992); Werlen *et al.*, *Bioconjugate Chem.*, 5: 411–417 (1994); Kumaran *et al.*, *Protein Sci.* 6(10):2233-2241 (1997); Itoh *et al.*, *Bioorg. Chem.*, 24(1): 59-68 (1996); Capellas *et al.*, *Biotechnol. Bioeng.*, 56(4):456-463 (1997)), а также способов, описанных в Hermanson, G. T., *Bioconjugate Techniques*, Academic Press: San Diego, CA (1996).

[0116] В способе настоящего изобретения также применяют композицию антител к ИЛ-23, содержащую по меньшей мере одно, по меньшей мере два, по

меньшей мере три, по меньшей мере четыре, по меньшей мере пять, по меньшей мере шесть или более антител к ИЛ-23, как описано в настоящем документе и/или известно специалистам в данной области, представленных в виде не встречающейся в природе композиции, смеси или формы. Такие композиции представляют собой не встречающиеся в природе композиции, содержащие по меньшей мере одну или две аминокислотные последовательности полноразмерных антител к ИЛ-23, вариантов с делецией на С- и/или N-конце, доменов, фрагментов или специфических вариантов, выбранные из группы, состоящей из последовательностей, на 70–100% идентичных последовательностям смежных аминокислот указанных выше SEQ ID NO или специфических фрагментов, доменов или их вариантов. Предпочтительные композиции антитела к ИЛ-23 включают по меньшей мере одну или две последовательности полноразмерных антител к ИЛ-23, фрагментов, доменов или вариантов с по меньшей мере одной CDR- или LBP-областью, например, последовательности, на 70–100% идентичные последовательностям указанных выше SEQ ID NO или фрагментов, доменов или их вариантов. Предпочтительные композиции дополнительно содержат, например, 40–99% по меньшей мере одной из 70–100% последовательностей с указанными выше SEQ ID NO и т. д. или их определенных фрагментов, доменов или вариантов. Процентные доли такой композиции определяют по массе, объему, концентрации, молярности или моляльности в жидких или сухих растворах, смесях, суспензиях, эмульсиях, частицах, порошке или коллоидах, как известно специалистам в данной области или описано в настоящем документе.

25 Композиции антител, содержащие дополнительные терапевтически активные вещества

[0117] Композиции антител, применяемые в способе настоящего изобретения, необязательно могут дополнительно содержать эффективное количество по меньшей мере одного соединения или белка, выбранного из по меньшей мере одного лекарственного средства (ЛС) против инфекции, ЛС для сердечно-сосудистой системы (ССС), ЛС для центральной нервной системы (ЦНС), ЛС для автономной нервной системы (АНС), ЛС для дыхательного тракта, ЛС для желудочно-кишечного тракта (ЖКТ), гормонального ЛС, ЛС для баланса жидкости или электролитов, гематологического ЛС,

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

[0118] Примером лекарственных средств, которые можно комбинировать с антителами для способа настоящего изобретения, является противомикробное лекарственное средство, которое может представлять собой по меньшей мере одно средство, выбранное из амбицидов, или по меньшей мере одного из противопаразитарных, противогельминтных, противогрибковых, противомаларийных, противотуберкулезных средств, или по меньшей мере одного из противомикробных средств, аминогликозидов, пенициллинов, цефалоспоринов, тетрациклинов, сульфонамидов, фторхинолонов, противовирусных, макролидных противомикробных средств и прочих противомикробных средств. Гормональное ЛС может представлять собой по меньшей мере одно средство, выбранное из кортикостероидов, андрогенов, или по меньшей мере одного из анаболических стероидов, эстрогенов, или по меньшей мере одно из прогестина, гонадотропина, антидиабетического ЛС, или по меньшей мере одно из глюкагона, тиреоидного гормона, антагониста тиреоидного гормона, гормона гипофиза и подобного паратгормону ЛС. По меньшей мере один цефалоспорин может представлять собой по меньшей мере один, выбранный из цефаклора, цефадроксила, цефазолина натрия, цефдинира, гидрохлорида цефепима, цефиксима, цефметазола натрия, цефоницида натрия, цефоперазона натрия, цефотаксима натрия, цефотетана динатрия, цефокситина натрия, цефподоксима проксетила, цефпрозила, цефтазидима, цефтибутена, цефтизоксима натрия, цефтриаксона натрия, цефуроксима аксетила, цефуроксима натрия, гидрохлорида цефалексина, моногидрата цефалексина, цефрадина и лоракарбефа.

[0119] По меньшей мере один кортикостероид может представлять собой по меньшей мере один, выбранный из бетаметазона, ацетата бетаметазона или фосфата бетаметазона натрия, фосфата бетаметазона натрия, кортизона ацетата, дексаметазона, ацетата дексаметазона, фосфата дексаметазона натрия, ацетата флудрокортизона, гидрокортизона, ацетата гидрокортизона, ципионата гидрокортизона, фосфата гидрокортизона натрия, сукцината гидрокортизона натрия, метилпреднизолона, ацетата метилпреднизолона, сукцината метилпреднизолона натрия, преднизолона, ацетата преднизолона, преднизолона фосфата натрия, тебутата преднизолона, преднизона, триамцинолона, ацетонида триамцинолона и диацетата триамцинолона. По меньшей мере один андроген или анаболический стероид может представлять собой по меньшей мере один, выбранный из даназола, флюоксиместерона, метилтестостерона, деканоата нандролона, фенпропионата нандролона, тестостерона, ципионата тестостерона, энантата тестостерона, пропионата тестостерона и тестостерона в трансдермальной системе.

[0120] По меньшей мере один иммунодепрессант может представлять собой по меньшей мере один, выбранный из азатиоприна, базиликсимаба, циклоспорина, даклизумаба, антилимфоцитарного иммуноглобулина, муромонаба CD3, микофенолята мофетила, микофенолята мофетила гидрохлорида, сиролимуса и такролимуса.

[0121] По меньшей мере одно противомикробное лекарственное средство местного действия может представлять собой по меньшей мере одно средство, выбранное из ацикловира, амфотерицина В, крема с азелаиновой кислотой, бацитрацина, бутоконазола нитрата, фосфата клиндамицина, клотримазола, нитрата эконазола, эритромицина, сульфата гентамицина, кетоконазола, ацетата мафенида, метронидазола (местного действия), нитрата миконазола, мупироцина, гидрохлорида нафтифина, сульфата неомицина, нитрофуразона, нистатина, сульфадиазина серебра, гидрохлорида тербинафина, терконазола, гидрохлорида тетрациклина, тиокконазола и толнафтата. По меньшей мере одно лекарственное средство против чесотки или педикулицид может представлять собой по меньшей мере одно средство, выбранное из кротамитона, линдана, перметрина и пиретринов. По меньшей мере один кортикостероид для местного применения может представлять собой по меньшей мере один, выбранный из дипропионата бетаметазона, валерата бетаметазона, пропионата клобетазола,

дезонид, дезоксиметазона, дексаметазона, фосфата дексаметазона натрия, диацетата дифлоразона, ацетонида флуоцинолона, флуоцинонида, флурандренолида, флутиказона пропионата, галционида, гидрокортизона, ацетата гидрокортизона, бутирата гидрокортизона, валерата гидрокортизона, фууроата мометазона и ацетонида триамцинолона (См., например, стр. 1098–1136 в *Nursing 2001 Drug Handbook*.)

[0122] Композиции антител к ИЛ-23 могут дополнительно содержать по меньшей мере одно из любых приемлемых и эффективных количеств композиции или фармацевтической композиции, содержащей по меньшей мере одно антитело к ИЛ-23, которое приводят в контакт или вводят в клетку, ткань, орган, животному или пациенту, нуждающемуся в таком модулировании, лечении или терапии, дополнительно необязательно содержащей по меньшей мере одно средство, выбранное из по меньшей мере одного антагониста ФНО (например, без ограничений, химического или белкового антагониста ФНО, моноклонального или поликлонального антитела к ФНО или фрагмента, растворимого рецептора ФНО (например, p55, p70 или p85) или фрагмента, их слитых полипептидов или низкомолекулярного антагониста ФНО, например, связывающего ФНО белка I или II (ТВР-1 или ТВР-II), нерелимонмаба, инфликсимаба, этернацепта, СDP-571, СDP-870, афелимомаба, ленерцепта и т. п.), противоревматического ЛС (например, метотрексата, ауранофина, ауротиоглюкозы, азатиоприна, этанерцепта, золота-натрия тиомалата, гидроксихлорохина сульфата, лефлуномида, сульфасалзина), иммунизации, иммуноглобулина, иммунодепрессанта (например, базиликсимаба, циклоспорина, даклизумаба), цитокина или антагониста цитокина. Не имеющие ограничительного характера примеры таких цитокинов включают, без ограничений, любой из от ИЛ-1 до ИЛ-40 и др. (например, ИЛ-1, ИЛ-2 и т. д.). Приемлемые дозировки хорошо известны специалистам в данной области. См., например, Wells et al., eds., *Pharmacotherapy Handbook*, 2nd Edition, Appleton and Lange, Stamford, CT (2000); *PDR Pharmacopoeia, Tarascon Pocket Pharmacopoeia 2000, Deluxe Edition*, Tarascon Publishing, Loma Linda, CA (2000), причем каждая из публикаций полностью включена в настоящий документ путем ссылки.

[0123] Соединения, композиции или комбинации антител к ИЛ-23, применяемые в способе настоящего изобретения, могут дополнительно содержать по меньшей мере одно из любых приемлемых вспомогательных

веществ, таких как, без ограничений, разбавитель, связующее вещество, стабилизатор, буферы, соли, липофильные растворители, консервант, адьювант и т. п. Предпочтительными являются фармацевтически приемлемые вспомогательные вещества. Не имеющие ограничительного характера примеры таких стерильных растворов и способы их получения хорошо известны 5 специалистам в данной области, например, без ограничений, описаны в Gennaro, Ed., *Remington's Pharmaceutical Sciences*, 18th Edition, Mack Publishing Co. (Easton, PA) 1990. Фармацевтически приемлемые носители могут быть выбраны обычным способом, исходя из приемлемости для пути введения, растворимости и/или стабильности композиции, содержащей антитело к ИЛ-23, фрагмент или 10 вариант, как хорошо известно специалистам в данной области или описано в настоящем документе.

[0124] Фармацевтические эксципиенты и добавки, используемые в настоящей композиции, включают, без ограничений, белки, пептиды, аминокислоты, 15 липиды и углеводы (например, сахара, включая моносахариды, ди-, три-, тетра- и олигосахариды; производные сахаров, такие как альдиты, альдоновые кислоты, этерифицированные сахара и т. п.; и полисахариды или полимеры сахаров), которые могут присутствовать отдельно или в комбинации, составляя отдельно или в комбинации 1–99,99% по массе или по объему. Примеры белковых 20 эксципиентов включают сывороточный альбумин, такой как человеческий сывороточный альбумин (HSA), рекомбинантный человеческий альбумин (rHA), желатин, казеин и т. п. Типичные компоненты аминокислот/антител, которые могут также выполнять буферную функцию, включают аланин, глицин, аргинин, бетаин, гистидин, глутаминовую кислоту, аспарагиновую кислоту, цистеин, 25 лизин, лейцин, изолейцин, валин, метионин, фенилаланин, аспартам и т. п. Одной предпочтительной аминокислотой является глицин.

[0125] Углеводные эксципиенты, приемлемые для применения в изобретении, включают, например, моносахариды, такие как фруктоза, мальтоза, галактоза, глюкоза, D-манноза, сорбоза и т. п.; дисахариды, такие как лактоза, сахароза, 30 трегалоза, целлобиоза и т. п.; полисахариды, такие как рафиноза, мелицитоза, мальтодекстрины, декстраны, крахмалы и т. п.; и альдиты, такие как маннит, ксилит, мальтит, лактит, ксилит, сорбит (глюцит), миоинозит и т. п. Предпочтительными углеводными эксципиентами для применения в настоящем изобретении являются маннит, трегалоза и рафиноза.

[0126] Композиции антител к ИЛ-23 могут также включать в себя буфер или агент, регулирующий pH; как правило, буфер представляет собой соль, полученную из органической кислоты или основания. Репрезентативные буферы включают соли органических кислот, такие как соли лимонной кислоты, аскорбиновой кислоты, глюконовой кислоты, угольной кислоты, винной кислоты, янтарной кислоты, уксусной кислоты или фталевой кислоты; буферы Трис, гидрохлорида трометамин или фосфата. Предпочтительными буферами для применения в настоящих композициях являются соли органических кислот, такие как цитрат.

10 **[0127]** Композиции антител к ИЛ-23 могут дополнительно включать в себя полимерные эксципиенты/добавки, такие как поливинилпирролидоны, фиколлы (полимерный сахар), декстраты (например, циклодекстрины, такие как 2-гидроксипропил- β -циклодекстрин), полиэтиленгликоли, ароматизаторы, противомикробные агенты, подсластители, антиоксиданты, антистатические агенты, поверхностно-активные вещества (например, полисорбаты, такие как ТВИН-20 и ТВИН-80), липиды (например, фосфолипиды, жирные кислоты), стероиды (например, холестерин) и хелатирующие агенты (например, ЭДТА).

15 **[0128]** Эти и дополнительные известные фармацевтические эксципиенты и/или добавки, приемлемые для применения в композициях антител к ИЛ-23, их участков или вариантов в соответствии с настоящим изобретением, известны специалистам в данной области, например, перечислены в Remington: The Science & Practice of Pharmacy, 19th ed., Williams & Williams, (1995) и в Physician's Desk Reference, 52nd ed., Medical Economics, Montvale, NJ (1998), содержание которых полностью включено в настоящий документ путем ссылки.

20 Предпочтительными материалами-носителями или эксципиентами являются углеводы (например, сахараиды и альдиты) и буферы (например, цитрат) или полимерные агенты. Примером молекулы-носителя является мукополисахарид, гиалуроновая кислота, которую можно использовать для внутрисуставного введения.

30 Составы

[0129] Как указано выше, в настоящем изобретении предложены стабильные составы, которые предпочтительно содержат фосфатный буфер с физиологическим раствором или выбранной солью, а также консервированные растворы и составы, содержащие консервант, а также консервированные составы

для многократного применения, пригодные для фармацевтического или ветеринарного применения, содержащие по меньшей мере одно антитело к ИЛ-23 в фармацевтически приемлемом составе. Консервированные составы содержат по меньшей мере один консервант, известный или необязательно
5 выбранный из группы, состоящей из по меньшей мере одного фенола, м-крезола, п-крезола, о-крезола, хлоркрезола, бензилового спирта, нитрита фенилртути, феноксиэтанола, формальдегида, хлорбутанола, хлорида магния (например, гексагидрата), алкилпарабена (метил-, этил-, пропил-, бутил- и т. п.), хлорида бензалкония, хлорида бензэтония, дегидроацетата натрия и тимеросала или их
10 смесей в водном разбавителе. Как известно специалистам в данной области, можно использовать любую приемлемую концентрацию или смесь, такую как 0,001–5%, или любой интервал, или значение в нем, например, без ограничений, 0,001, 0,003, 0,005, 0,009, 0,01, 0,02, 0,03, 0,05, 0,09, 0,1, 0,2, 0,3, 0,4, 0,5, 0,6, 0,7, 0,8, 0,9, 1,0, 1,1, 1,2, 1,3, 1,4, 1,5, 1,6, 1,7, 1,8, 1,9, 2,0, 2,1, 2,2, 2,3, 2,4, 2,5, 2,6,
15 2,7, 2,8, 2,9, 3,0, 3,1, 3,2, 3,3, 3,4, 3,5, 3,6, 3,7, 3,8, 3,9, 4,0, 4,3, 4,5, 4,6, 4,7, 4,8, 4,9, или любой интервал, или значение в нем. Не имеющие ограничительного характера примеры включают отсутствие консервантов, 0,1–2% м-крезола (например, 0,2, 0,3, 0,4, 0,5, 0,9, 1,0%), 0,1–3% бензилового спирта (например, 0,5, 0,9, 1,1, 1,5, 1,9, 2,0, 2,5%), 0,001–0,5% тимеросала (например, 0,005, 0,01%),
20 0,001–2,0% фенола (например, 0,05, 0,25, 0,28, 0,5, 0,9, 1,0%), 0,0005–1,0% алкилпарабена (-ов) (например, 0,00075, 0,0009, 0,001, 0,002, 0,005, 0,0075, 0,009, 0,01, 0,02, 0,05, 0,075, 0,09, 0,1, 0,2, 0,3, 0,5, 0,75, 0,9, 1,0%) и т. п.

[0130] Как отмечено выше, в способе изобретения применяют промышленное изделие, содержащее упаковочный материал и по меньшей мере один флакон,
25 содержащий раствор по меньшей мере одного специфичного антитела к ИЛ-23 с предписанными буферами и/или консервантами, необязательно в водном разбавителе, причем указанный упаковочный материал содержит этикетку с указанием, что такой раствор можно хранить в течение периода 1, 2, 3, 4, 5, 6, 9, 12, 18, 20, 24, 30, 36, 40, 48, 54, 60, 66, 72 часов или дольше. В изобретении
30 дополнительно применяют промышленное изделие, содержащее упаковочный материал, первый флакон, содержащий лиофилизированное специфичное к ИЛ-23 антитело, и второй флакон, содержащий водный разбавитель, состоящий из предписанного буфера или консерванта, причем указанный упаковочный материал содержит этикетку с инструкцией для пациента о том, как разводить

специфичное к ИЛ-23 антитело в водном разбавителе с образованием раствора, который можно хранить в течение периода в двадцать четыре часа или дольше.

[0131] Антитело к ИЛ-23, применяемое в соответствии с настоящим изобретением, можно продуцировать рекомбинантными способами, в том числе из клетки млекопитающего или трансгенных препаратов, либо его можно очищать из других биологических источников, как описано в настоящем документе или как известно специалистам в данной области.

[0132] Диапазон количества антитела к ИЛ-23 включает количества, которые после разведения (при использовании влажной/сухой системы) достигают концентраций от около 1,0 мкг/мл до около 1000 мг/мл, хотя меньшие и большие концентрации приемлемы и зависят от предполагаемой несущей среды для введения, например, составы раствора различаются для способов с трансдермальным пластырем, введением через легкие, через слизистые оболочки, или осмотическим способом, или с помощью микродозатора.

[0133] Дополнительно водный разбавитель предпочтительно необязательно содержит фармацевтически приемлемый консервант. Предпочтительные консерванты включают выбранные из группы, состоящей из фенола, м-крезола, п-крезола, о-крезола, хлоркрезола, бензилового спирта, алкилпарабена (метил-, этил-, пропил-, бутил- и т. п.), хлорида бензалкония, хлорида бензэтония, дегидроацетата и тимеросала натрия или их смесей. Концентрации консерванта, применяемой в составе, должно быть достаточно для обеспечения противомикробного действия. Такие концентрации зависят от выбранного консерванта, и квалифицированный специалист в данной области без труда определяет ее.

[0134] Предпочтительно в разбавитель можно необязательно добавлять другие эксципиенты, например изотонические агенты, буферы, антиоксиданты и средства, усиливающие консервацию. Изотонические агенты, такие как глицерин, широко используют в известных концентрациях. Для улучшения контроля рН предпочтительно добавляют физиологически приемлемый буфер. Составы могут охватывать широкий диапазон рН, такой как от около рН 4 до около рН 10, с предпочтительным интервалом от около рН 5 до около рН 9 и наиболее предпочтительно от около рН 6,0 до около рН 8,0. Составы настоящего изобретения предпочтительно имеют рН от около 6,8 до около 7,8.

Предпочтительные буферы включают фосфатные буферы, наиболее предпочтительно фосфат натрия, в частности фосфатно-солевой буфер (PBS).

5 **[0135]** Для уменьшения агрегации в составы или композиции можно необязательно добавлять другие добавки, такие как фармацевтически приемлемые солюбилизаторы, например твин-20 (полиоксиэтилен (20) сорбитанмонолаурат), твин-40 (полиоксиэтилен (20) сорбитанмонопальмитат), твин-80 (полиоксиэтилен (20) сорбитанмоноолеат), Pluronic F68 (блок-сополимеры полиоксиэтилена и полиоксипропилена) и PEG (полиэтиленгликоль), или неионные поверхностно-активные вещества, такие как полисорбат 20 или 80, либо полксамер 184 или 188, полиолы Pluronic®, другие блок-сополимеры, и хелатирующие вещества, такие как ЭДТА и ЭГТА. Эти добавки, в частности, используют, если для введения состава применяют насос или пластиковый контейнер. Наличие фармацевтически приемлемого поверхностно-активного вещества снижает склонность белка к агрегации.

10 **[0136]** Составы можно получать способом, который включает смешивание по меньшей мере одного антитела к ИЛ-23 и консерванта, выбранного из группы, состоящей из фенола, м-крезола, п-крезола, о-крезола, хлоркрезола, бензилового спирта, алкилпарабена (метил-, этил-, пропил-, бутил- и т. п.), бензалкония хлорида, бензэтония хлорида, дегидроацетата натрия и тимеросала или их смесей в водном разбавителе. Смешивание по меньшей мере одного специфичного к ИЛ-23 антитела и консерванта в водном разбавителе осуществляют с помощью стандартных процедур растворения и смешивания. Например, для получения приемлемого состава соединяют отмеренное количество по меньшей мере одного специфичного антитела к ИЛ-23 в 15 буферном растворе с необходимым консервантом в буферном растворе в количествах, достаточных для получения требуемых концентраций белка и консерванта. Варианты этого процесса понятны специалисту в данной области. Например, для оптимизации с учетом концентрации и применяемого способа введения можно изменять такие факторы, как порядок добавления компонентов, внесение дополнительных добавок, температура и рН, при которых получают 20 состав.

30 **[0137]** Составы можно предоставлять пациентам в виде прозрачных растворов или двойных флаконов, включающих флакон с лиофилизированным специфическим антителом к ИЛ-23, которое разводят содержащимися во втором

флаконе водой, консервантом и/или эксципиентами, предпочтительно фосфатным буфером и/или физиологическим раствором и выбранной солью, в водном разбавителе. Либо один флакон с раствором, либо двойной флакон с составом, предполагающим смешивание, можно использовать многократно, и их
5 достаточно для одного или множества циклов лечения пациента, что может быть более удобным по сравнению с существующим в настоящее время режимом лечения.

[0138] Настоящие промышленные изделия используют как для немедленного введения, так и в течение периода двадцати четырех часов или дольше.

10 Соответственно, заявленные в настоящем документе промышленные изделия обеспечивают значимые преимущества для пациентов. Составы настоящего изобретения необязательно можно безопасно хранить при температуре от около 2 °С до около 40 °С, причем биологическая активность белка сохраняется в течение продолжительных периодов времени, в связи с чем на упаковке
15 допускается этикетка, указывающая, что раствор можно хранить и/или использовать в течение периода 6, 12, 18, 24, 36, 48, 72, или 96 часов, или более. При использовании разбавителя с консервантом на такой этикетке может быть указан срок годности до 1–12 месяцев, полугод, полутора и/или двух лет.

[0139] Растворы специфичного антитела к ИЛ-23 можно получать способом, который включает смешивание по меньшей мере одного антитела в водном
20 разбавителе. Смешивание осуществляют с помощью стандартных процедур растворения и смешивания. Например, чтобы получить приемлемый разбавитель, отмеренное количество по меньшей мере одного антитела в воде или буфере соединяют в количествах, достаточных для получения требуемых
25 концентраций белка и необязательно консерванта или буфера. Варианты этого процесса понятны специалисту в данной области. Например, для оптимизации с учетом концентрации и применяемого способа введения можно изменять такие факторы, как порядок добавления компонентов, внесение дополнительных добавок, температура и рН, при которых получают состав.

30 **[0140]** Заявленные продукты можно предоставлять субъектам в виде прозрачных растворов или двойного флакона, включая флакон с по меньшей мере одним лиофилизированным специфичным к ИЛ-23 антителом, которое разводят содержащимся во втором флаконе водным разбавителем. Либо один флакон с раствором, либо двойной флакон с составом, предполагающим

смешивание, можно использовать многократно, и их достаточно для одного или множества циклов лечения пациента, что может быть более удобным по сравнению с существующим в настоящее время режимом лечения.

5 **[0141]** Заявленные продукты можно предоставлять пациентам не напрямую, а посредством поставки в аптеки, клиники или другие такие учреждения и организации прозрачных растворов или двойных флаконов, содержащих флакон с по меньшей мере одним лиофилизированным специфическим антителом к ИЛ-23, которое разводят содержащимся во втором флаконе водным разбавителем. В этом случае объем прозрачного раствора может составлять до одного литра или 10 даже больший объем, тем самым обеспечивая большой сосуд, из которого в аптеке или клинике можно дозировать малыми порциями раствор по меньшей мере одного антитела, однократно или многократно, для переливания во флаконы меньшего размера и предоставления покупателям и/или пациентам.

15 **[0142]** Общеизвестные устройства, содержащие системы с одним флаконом, включают устройства для инъекций типа шприца-ручки, такие как BD Pens, BD Autojector[®], Humaject[®], NovoPen[®], B-D[®] Pen, AutoPen[®] и OptiPen[®], GenotropinPen[®], Genotronorm Pen[®], Humatro Pen[®], Reco-Pen[®], Roferon Pen[®], Biojector[®], Iject[®], J-tip Needle-Free Injector[®], Intraject[®], Medi-Ject[®], Smartject[®], например, изготовленные или разработанные компаниями Becton Dickenson 20 (Франклин Лейкс, штат Нью-Джерси, США, www.bectondickenson.com), Disetronic (Бургдорф, Швейцария, www.disetronic.com; Bioject, г. Портленд, штат Орегон, США (www.bioject.com); National Medical Products, Weston Medical (г. Питерборо, Великобритания, www.weston-medical.com), Medi-Ject Corp. (г. Миннеаполис, штат Миннесота, США, www.mediject.com), и подобные 25 приемлемые устройства. Признанные устройства, содержащие системы двойных флаконов, включают такие системы шприца-ручки для разведения лиофилизированного лекарственного средства в картридже для введения разведенного раствора, например HumatroPen[®]. Примеры других приемлемых устройств включают предварительно заполненные шприцы, автоинжекторы, 30 безыгольные инжекторы и безыгольные наборы для внутривенного вливания.

[0143] Продукты могут включать в себя упаковочный материал. В дополнение к информации по требованию контролирующих органов, на упаковочном материале также указывают условия, при которых можно

использовать продукт. Упаковочный материал настоящего изобретения содержит, если применимо, инструкции для пациента по разведению по меньшей мере одного антитела к ИЛ-23/ в водном разбавителе с получением раствора и по использованию раствора в течение периода 2–24 часов или дольше в случае 5 двух флаконов — влажного/сухого, с продуктом. Для одного флакона с продуктом в виде раствора, предварительно заполненного шприца или автоинжектора на упаковке указывают, что такой раствор можно использовать в течение периода 2–24 часов или дольше. Продукты используются человеком в фармацевтических целях.

10 **[0144]** Составы, применяемые в способе настоящего изобретения, можно получать способом, который включает смешивание антитела к ИЛ-23 и выбранного буфера, предпочтительно фосфатного буфера, содержащего физиологический раствор или выбранную соль. Смешивание антитела к ИЛ-23 и буфера в водном разбавителе осуществляют с использованием стандартных 15 процедур растворения и смешивания. Например, чтобы получить приемлемый состав, отмеренное количество по меньшей мере одного антитела в воде или буфере соединяют с требуемым буферным агентом в воде в количествах, достаточных для получения требуемых концентраций белка и буфера. Варианты этого процесса понятны специалисту в данной области. Например, для 20 оптимизации с учетом концентрации и применяемого способа введения можно изменять такие факторы, как порядок добавления компонентов, внесение дополнительных добавок, температура и рН, при которых получают состав.

[0145] В способе изобретения предлагаются фармацевтические композиции, содержащие различные составы, полезные и приемлемые для введения пациенту, 25 человеку или животному. Такие фармацевтические композиции получают с использованием воды в «стандартном состоянии» в качестве разбавителя и путем обычных способов, хорошо известных обычным специалистам в данной области. Например, сначала можно предоставить буферные компоненты, такие как гистидин и гистидина моногидрохлорида гидрат, с последующим 30 добавлением подходящего, не конечного объема водного разбавителя, сахарозы и полисорбата-80 в «стандартном состоянии». Затем можно добавлять выделенное антитело. Наконец, объем фармацевтической композиции доводят до требуемого конечного объема в условиях «стандартного состояния» добавлением в качестве разбавителя воды. Специалисты в данной области

определят ряд других способов, приемлемых для получения фармацевтических композиций.

[0146] Фармацевтические композиции могут представлять собой водные растворы или суспензии, содержащие указанную массу каждого компонента на единицу объема воды, или имеющие в «стандартном состоянии» указанный рН. При использовании в настоящем документе термин «стандартное состояние» означает температуру $25\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ и давление в 1 атмосферу. Термин «стандартное состояние» не используется в данной области для обозначения одного признанного набора температур или давления, но вместо этого является эталонным состоянием, которое определяет температуру и давление, установленные для описания раствора или суспензии с определенной композицией в эталонных условиях «стандартного состояния». Это связано с тем, что объем раствора частично зависит от температуры и давления. Специалисты в данной области поймут, что фармацевтические композиции, эквивалентные описанным в настоящем документе, можно продуцировать при других значениях температуры и давления. То, эквивалентны ли такие фармацевтические композиции описанным в настоящем документе, следует определять в условиях «стандартного состояния», определенных выше (например, температура $25\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ и давление 1 атмосфера).

[0147] Важно отметить, что такие фармацевтические композиции могут содержать массы компонентов «около» определенного значения (например, «около 0,53 мг L-гистидина») на единицу объема фармацевтической композиции или иметь значения рН около определенного значения. Масса компонента, присутствующего в фармацевтической композиции, или значение рН находится «около» данного численного значения, если выделенное антитело, присутствующее в фармацевтической композиции, способно связываться с пептидной цепью при нахождении выделенного антитела в фармацевтической композиции или после удаления выделенного антитела из фармацевтической композиции (например, при разведении). Иначе говоря, значение, такое как значение массы компонента или значение рН, составляет «около» заданного численного значения при сохранении и обнаружении активности связывания изолированного антитела после помещения изолированного антитела в фармацевтическую композицию.

[0148] Чтобы определить, связываются ли специфичные к ИЛ-23 мАт с аналогичными или отличающимися эпитопами и/или конкурируют ли они друг с другом, проводят анализ конкурентного связывания. Антитела наносят по отдельности на планшеты для ИФА на твердой фазе в виде покрытия. Добавляют конкурирующие мАт с последующим добавлением биотинилированных рекомбинантных ИЛ-23 человека. Для положительного контроля в качестве конкурирующего мАт используют то же мАт, что и для покрытия («самоконкуренция»). Связывание ИЛ-23 определяют с помощью стрептавидина. Эти результаты показывают, распознают ли мАт подобные или частично перекрывающиеся эпитопы на ИЛ-23.

[0149] В одном варианте осуществления фармацевтических композиций концентрация изолированного антитела составляет от около 77 до около 104 мг на мл фармацевтической композиции. В другом варианте осуществления фармацевтических композиций рН составляет от около 5,5 до около 6,5.

[0150] Стабильные или консервированные составы можно предоставлять пациентам в виде прозрачных растворов или двойных флаконов, содержащих флакон с по меньшей мере одним лиофилизированным антителом к ИЛ-/23, которое разводят содержащимися во втором флаконе консервантом или буфером и эксципиентами в водном разбавителе. Либо один флакон с раствором, либо двойной флакон с составом, предполагающим смешивание, можно использовать многократно, и их достаточно для одного или множества циклов лечения пациента, что может быть более удобным по сравнению с существующим в настоящее время режимом лечения.

[0151] С помощью других составов или способов стабилизации антител к ИЛ-23 можно получать содержащее антитело средство, отличное от прозрачного раствора лиофилизированного порошка. К непрозрачным растворам относятся составы, содержащие взвешенные частицы, причем указанные частицы представляют собой композиции, содержащие антитело к ИЛ-23 в структуре с варьирующим размером, и известны под различными названиями, такими как микросферы, микрочастицы, наночастицы, наносферы или липосомы. Такие относительно однородные, по существу, сферические, составы в виде частиц, содержащие активный агент, можно формировать путем связывания водной фазы, содержащей активный агент и полимер, с неводной фазой, с последующим испарением неводной фазы и слиянием частиц из водной фазы, как описано в

патенте США № 4,589,330. Пористые микрочастицы можно получать с помощью первой фазы, содержащей активный агент и полимер, диспергированные в непрерывном растворителе, и посредством удаления указанного растворителя из суспензии способом сублимационной сушки либо разбавления, экстракции и осадения, как описано в патенте США № 4,818,542. Предпочтительными полимерами для таких препаратов являются естественные или синтетические сополимеры, либо полимеры, выбранные из группы, состоящей из желатинового агара, крахмала, арабиногалактана, альбумина, коллагена, полигликолевой кислоты, полимолочной кислоты, гликолид-L(-)-лактида, поли(эпсилон-капролактона), поли(эпсилон-капролактон-СО-молочной кислоты), поли(эпсилон-капролактон-СО-гликолевой кислоты), поли(бета-гидроксимасляной кислоты), полиэтиленоксида, полиэтилена, поли(алкил-2-цианакрилата), поли(гидроксиэтилметакрилата), полиамидов, поли(аминокислот), поли(2-гидроксиэтил-DL-аспартамида), поли(эфира мочевины), поли(L-фенилаланин/этиленгликоль/1,6-диизоцианатгексана) и поли(метилметакрилата). Наиболее предпочтительными полимерами являются полиэферы, такие как полигликолевая кислота, полимолочная кислота, гликолид-L(-)-лактид, поли(эпсилон-капролактон), поли(эпсилон-капролактон-СО-молочная кислота) и поли(эпсилон-капролактон-СО-гликолевая кислота).

Растворители, используемые для растворения полимера и/или активного вещества, включают: воду, гексафторизопропанол, метиленхлорид, тетрагидрофуран, гексан, бензол или полуторагидрат гексафторацетона. Процесс диспергирования содержащей активное вещество фазы со второй фазой может включать принудительный пропуск первой фазы через отверстие в сопле для образования капель.

[0152] Составы в виде сухого порошка можно получать иными способами помимо лиофилизации, например, путем распылительной сушки, экстракции растворителя испарением или осадения кристаллической композиции, за которыми следуют одна или несколько стадий удаления водного или неводного растворителя. Получение препарата антитела путем распылительной сушки описано в патенте США № 6,019,968. Композиции антитела в виде сухого порошка можно получать путем распылительной сушки растворов или суспензий антитела и необязательно эксципиентов в растворителе в условиях, обеспечивающих получение вдыхаемого сухого порошка. Растворители могут

включать полярные соединения, такие как вода и этанол, которые можно легко высушивать. Стабильность антитела можно усилить путем выполнения процедуры распылительной сушки в отсутствие кислорода, например, под слоем азота или с применением азота в качестве сушильного газа. Другой

5 относительно сухой состав является дисперсией множества перфорированных микроструктур, диспергированных в суспензионной среде, обычно содержащей пропеллент гидрофторалкан, как описано в WO9916419. Стабилизированные дисперсии можно вводить в легкие пациента с помощью ингалятора мерных доз. Оборудование, используемое для промышленного производства лекарственного
10 средства путем распылительной сушки, выпускается Buchi Ltd. или Niro Corp.

[0153] Антитело к ИЛ-/23, в стабильных или консервированных составах или растворах, описанных в настоящем документе, в соответствии с настоящим изобретением можно вводить пациенту с помощью разных способов доставки, включая подкожную или внутримышечную инъекцию; трансдермальное
15 введение, введение в легкие, через слизистую оболочку, посредством имплантата, осмотического дозатора, кассеты, микродозатора или других способов, признанных специалистами в данной области, как хорошо известно в данной области.

20 Терапевтическое применение

[0154] В настоящем изобретении также предложен известный специалистам в данной области или описанный в настоящем документе способ модуляции или лечения болезни Крона на уровне клетки, ткани, органа или на уровне организма животного или пациента с применением по меньшей мере одного антитела к ИЛ-
25 23 по настоящему изобретению, например, путем введения в терапевтически эффективном количестве специфического антитела к ИЛ-23 или его приведения в контакт с клеткой, тканью, органом или в целом с организмом животного или пациента.

[0155] Любой способ настоящего изобретения может включать в себя
30 введение эффективного количества композиции или фармацевтической композиции, содержащей антитело к ИЛ-23, в клетку, ткань, орган, животному или пациенту, нуждающемуся в таком модулировании, лечении или терапии. Такой способ может необязательно дополнительно включать совместное введение или применение комбинированной терапии для лечения таких

заболеваний или расстройств, причем введение указанного по меньшей мере одного антитела к ИЛ-23, его определенного участка или варианта, дополнительно включает введение (до, одновременно и/или после) по меньшей мере одного средства, выбранного из по меньшей мере одного антагониста ФНО

5 (например, без ограничения, химического или белкового антагониста ФНО, моноклонального или поликлонального антитела к ФНО или его фрагмента, растворимого рецептора ФНО (например, p55, p70 или p85) или его фрагмента, их слитых полипептидов, или низкомолекулярного антагониста ФНО, например связывающего ФНО белка I или II (ТВР-1 или ТВР-II), нерелимонмаба,

10 инфликсимаба, этернацепта (Enbrel™), адалимулаба (Humira™), CDP-571, CDP-870, афелимомаба, ленерцепта и т. п.), противоревматического ЛС (например, метотрексата, ауранофина, ауротиоглюкозы, азатиоприна, золота-натрия тиомалата, гидроксихлорохина сульфата, лефлуномида, сульфасалзина), миорелаксанта, наркотического ЛС, нестероидного противовоспалительного

15 средства (НПВС), анальгетика, анестезирующего ЛС, седативного ЛС, ЛС местной анестезии, нервно-мышечного блокатора, противомикробного ЛС (например, аминогликозида, противогрибкового ЛС, противопаразитарного ЛС, противовирусного ЛС, карбапенема, цефалоспорины, фторхинолона, макролида, пенициллина, сульфонамида, тетрациклина, другого противомикробного ЛС),

20 противопсориатического ЛС, кортикостероида, анаболического стероида, ЛС для лечения сахарного диабета, минерала, диетического ЛС, тиреоидного ЛС, витамина, гормона регуляции кальция, ЛС против диареи, ЛС против кашля, противорвотного ЛС, ЛС против язвы, слабительного ЛС, антикоагулянта, эритропозтина (например, эпоэтина альфа), филграстима (например, G-CSF,

25 Neupogen), сарграмостима (GM-CSF, Leukine), иммунизации, иммуноглобулина, иммунодепрессанта (например, базиликсимаба, циклоспорины, даклизумаба), гормона роста, заместительной гормональной терапии, модулятора рецепторов эстрогена, мидриатика, ЛС циклоплегии, алкилирующего агента, антиметаболита, ингибитора митоза, радиофармацевтического ЛС,

30 антидепрессанта, ЛС против мании, антипсихотического ЛС, анксиолитического ЛС, снотворного ЛС, симпатомиметика, возбуждающего ЛС, донепезила, такрина, ЛС для лечения астмы, бета-агониста, стероида для ингаляции, ингибитора лейкотриена, метилксантина, кромолина, адреналина или его аналога, дорназы альфа (Pulmozyme), цитокина или антагониста цитокина.

Приемлемые дозировки хорошо известны специалистам в данной области. См., например, Wells et al., eds., *Pharmacotherapy Handbook*, 2nd Edition, Appleton and Lange, Stamford, CT (2000); *PDR Pharmacopoeia*, Tarascon Pocket Pharmacopoeia 2000, Deluxe Edition, Tarascon Publishing, Loma Linda, CA (2000); *Nursing 2001 Handbook of Drugs*, 21st edition, Springhouse Corp., Springhouse, PA, 2001; *Health Professional's Drug Guide 2001*, ed., Shannon, Wilson, Stang, Prentice-Hall, Inc, Upper Saddle River, NJ, все из которых полностью включены в настоящий документ путем ссылки.

10 Терапевтические способы лечения

[0156] Как правило, эффективное лечение болезни Крона осуществляют путем введения эффективного количества или дозы композиции, содержащей антитело к ИЛ-23, причем суммарное количество антитела к ИЛ-23 в этой композиции составляет в среднем в диапазоне от около 0,01 до 500 миллиграмм на килограмм массы тела пациента в одной дозе и предпочтительно от по меньшей мере около 0,1 до 100 миллиграмм антитела на килограмм массы тела пациента за одно или более введений, в зависимости от специфичной активности активного агента, содержащегося в композиции. В альтернативном варианте осуществления эффективная концентрация в сыворотке может составлять 0,1–5000 мкг/мл сыворотки за одно или множество введений. Приемлемые дозы известны медицинским специалистам и, разумеется, зависят от конкретного болезненного состояния, удельной активности вводимой композиции и конкретного пациента, получающего лечение. В некоторых случаях для достижения требуемого терапевтического количества может потребоваться выполнение повторного введения, т. е. повторных отдельных введений конкретной контролируемой или измеренной дозы, причем отдельные введения повторяют до достижения требуемой суточной дозы или эффекта.

[0157] Предпочтительные дозы могут необязательно включать 0,1, 0,2, 0,3, 0,4, 0,5, 0,6, 0,7, 0,8, 0,9, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99 и/или 100–500 мг/кг за одно введение, или любой интервал, значение или часть этого диапазона, или количество для

5 достижения в сыворотке концентрации 0,1, 0,5, 0,9, 1,0, 1,1, 1,2, 1,5, 1,9, 2,0, 2,5, 2,9, 3,0, 3,5, 3,9, 4,0, 4,5, 4,9, 5,0, 5,5, 5,9, 6,0, 6,5, 6,9, 7,0, 7,5, 7,9, 8,0, 8,5, 8,9, 9,0, 9,5, 9,9, 10, 10,5, 10,9, 11, 11,5, 11,9, 20, 12,5, 12,9, 13,0, 13,5, 13,9, 14,0, 14,5, 4,9, 5,0, 5,5, 5,9, 6,0, 6,5, 6,9, 7,0, 7,5, 7,9, 8,0, 8,5, 8,9, 9,0, 9,5, 9,9, 10, 10,5, 10,9, 11, 11,5, 11,9, 12, 12,5, 12,9, 13,0, 13,5, 13,9, 14, 14,5, 15, 15,5, 15,9, 16, 16,5, 16,9, 17, 17,5, 17,9, 18, 18,5, 18,9, 19, 19,5, 19,9, 20, 20,5, 20,9, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 96, 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1000, 1500, 2000, 2500, 3000, 3500, 4000, 4500 и/или 5000 мкг/мл сыворотки за однократное или многократное введение, или любой интервал, значение или часть этого диапазона.

10 **[0158]** В альтернативном варианте осуществления вводимые дозы могут варьироваться в зависимости от известных факторов, таких как фармакодинамические показатели конкретного агента, режим и способ его введения; возраст, состояние здоровья и масса реципиента; природа и степень
15 выраженности симптомов, тип сопутствующего лечения, частота введения и требуемый эффект. Обычно доза активного ингредиента составляет от около 0,1 до 100 мг на килограмм массы тела. Как правило, от 0,1 до 50 и предпочтительно от 0,1 до 10 миллиграмм на килограмм за одно введение или в лекарственной форме с замедленным высвобождением будет эффективно для достижения
20 желаемых результатов.

[0159] В качестве не налагающего ограничения примера, лечение людей или животных можно проводить в виде однократного или периодического введения по меньшей мере одного антитела по настоящему изобретению в дозе от 0,1 до 100 мг/кг, например, 0,5, 0,9, 1,0, 1,1, 1,5, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14,
25 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 40, 45, 50, 60, 70, 80, 90 или 100 мг/кг в сутки, по меньшей мере в одни из суток 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39 или 40, либо, альтернативно или дополнительно, по меньшей мере на одной из недель 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16,
30 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51 или 52, либо, альтернативно или дополнительно, по меньшей мере в один год из 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 или 20, либо в любом их сочетании, с введением однократной, инфузионной или повторных доз.

[0160] Лекарственные формы (композиция), приемлемые для внутреннего введения, по существу, содержат от около 0,001 мг до около 500 мг активного ингредиента на единицу или контейнер. В этих фармацевтических композициях активный ингредиент обычно присутствует в количестве около 0,5–99,999% масс. в расчете на общую массу композиции.

[0161] Для парентерального введения антитела лекарственная форма может представлять собой раствор, суспензию, эмульсию, частицу, порошок или лиофилизированный порошок вместе с фармацевтически приемлемым носителем для парентерального введения или отдельно от носителя. Примерами таких носителей являются вода, физиологический раствор, раствор Рингера, раствор глюкозы и человеческий сывороточный альбумин 1–10%. Кроме того, можно применять липосомы и безводные среды, например нелетучие масла. Носитель или лиофилизированный порошок может содержать добавки, способствующие изотоничности (например, хлорид натрия, маннит) и химической стабильности (например, буферы и консерванты). Состав стерилизуют известными или приемлемыми методиками.

[0162] Приемлемые фармацевтические носители описаны в последнем издании Remington's Pharmaceutical Sciences, A. Osol, которое является стандартным источником ссылок в данной области.

Альтернативные способы введения

[0163] В соответствии с настоящим изобретением для введения фармацевтически эффективных количеств антитела к ИЛ-23 можно применять множество известных и разработанных способов введения. Далее описано введение через легкие, однако в соответствии с настоящим изобретением можно также применять другие способы введения, дающие приемлемые результаты. Антитела к ИЛ-23 по настоящему изобретению можно доставлять в носителе в виде раствора, эмульсии, коллоида или суспензии, либо в виде сухого порошка с применением любого из множества устройств и способов, приемлемых для введения путем ингаляции или другими способами, описанными в настоящем документе или известными специалистам в данной области.

Парентеральные составы и введение

[0164] Составы для парентерального введения могут в качестве обычных эксципиентов содержать стерильную воду, физиологический раствор, полиалкиленгликоли, такие как полиэтиленгликоль, масла растительного происхождения, гидрогенизированные нафталины и т. п. Водные или масляные суспензии для инъекций можно получать с использованием подходящего эмульгатора или увлажнителя и суспендирующего агента известными способами. Для инъекций можно использовать нетоксичный, пригодный для неперорального введения, разбавляющий агент, например водный раствор, стерильный раствор для инъекций или суспензию в растворителе. В качестве пригодной несущей среды или растворителя допустимо использовать воду, раствор Рингера, изотонический раствор и т. п.; в качестве обычного растворителя или суспендирующего растворителя можно использовать стерильное нелетучее масло. Для этого можно использовать нелетучее масло и жирную кислоту любого вида, включая природные или синтетические либо полусинтетические жирные масла или жирные кислоты; природные или синтетические либо полусинтетические моно-, ди- или триглицериды. Парентеральное введение известно в данной области и включает, без ограничений, общепринятые средства инъекции, пневматическое безыгольное инъекционное устройство, описанное в патенте США № 5,851,198, и лазерный перфоратор, описанный в патенте США № 5,839,446, полностью включенные в настоящий документ путем ссылки.

Альтернативные способы доставки

[0165] Изобретение дополнительно относится к введению антитела к ИЛ-23 путем парентерального, подкожного, внутримышечного, внутривенного, внутрисуставного, внутрибронхиального, внутрибрюшного, интракапсулярного, внутривлагалищного, внутриполостного, интрацелиального, внутримозжечкового, внутрижелудочкового, внутрикишечного, интрацервикального, внутрижелудочного, внутрипеченочного, интрамиокардиального, внутрикостного, внутритазового, интраперикардиального, интраперитонеального, интраплеврального, в предстательную железу, внутрилегочного, интаректального, интареального, интаретинального, интраспинального, интрасиновиального, внутригрудного, внутриматочного,

внутрипузырного, в пораженные ткани, болюсного, вагинального, ректального, буккального, подъязычного, интраназального или чрескожного введения.

Композицию антител к ИЛ-23 можно приготовить для парентерального (подкожного, внутримышечного или внутривенного) или любого другого

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

[0166] Приведенное выше описание изобретения, по существу, дополнительно разъясняется далее с помощью примеров, которые представлены в качестве иллюстрации и не являются ограничивающими. Дополнительные подробности изобретения иллюстрируют следующими ниже не имеющими
30 ограничительного характера примерами. Описание всех цитат в спецификации прямо включено в настоящий документ путем ссылки.

ВАРИАНТЫ ОСУЩЕСТВЛЕНИЯ

[0167] В настоящем изобретении предложены следующие не имеющие ограничительного характера варианты осуществления:

- 5 1. Способ лечения болезни Крона у пациента, включающий введение пациенту начальной подкожной дозы 400 мг специфичного антитела к ИЛ-23, 400 мг подкожной дозы примерно через 4 недели после начальной дозы и 400 мг подкожной дозы примерно через 8 недель после начальной дозы.
- 10 2. Способ по варианту осуществления изобретения 1, дополнительно включающий введение дозы 100 мг или 200 мг антитела примерно каждые 4 недели или примерно каждые 8 недель после введения дозы примерно через 8 недель.
- 15 3. Способ по варианту осуществления изобретения 2, дополнительно включающий введение дозы 200 мг антитела примерно каждые 4 недели после введения дозы примерно через 8 недель.
- 20 4. Способ по варианту осуществления изобретения 2, дополнительно включающий введение дозы 100 мг антитела примерно каждые 8 недель после введения дозы примерно через 8 недель.
- 25 5. Способ по варианту осуществления изобретения 1, в котором пациент отвечает на антитело и идентифицирован как соответствующий клинической конечной точке примерно через 12 недель после начальной дозы, причем клиническая конечная точка представляет собой клиническую ремиссию на неделе 12, определяемую как CDAI менее (<) 150 баллов или ответ, определенный по данным эндоскопии и измеренный по меньшей мере 50%-ным улучшением по сравнению с исходным уровнем по простой эндоскопической оценке болезни Крона (SES-CD).
- 30 6. Способ по варианту осуществления изобретения 1, в котором пациент идентифицирован как соответствующий клинической конечной точке, причем клиническая конечная точка выбрана из группы, состоящей из следующего: (i) клинической ремиссии, определяемой как CDAI менее (<) 150 баллов, измеренной примерно через 24 недели после начальной дозы; (ii) ремиссии на основе сообщаемого пациентом результата (PRO)-

2, определенной на основе среднесуточной частоты стула (ЧС) ≤ 3 и среднесуточной оценки боли в области живота (БЖ) ≤ 1 , и отсутствия ухудшения БЖ или ЧС относительно исходного уровня, измеренного примерно через 12 недель после начальной дозы; и (iii) клинического ответа, определяемого как снижение показателя CDAI на 100 или более (\geq) баллов относительно исходного уровня, измеренного примерно через 12 недель после начальной дозы.

7. Способ по варианту осуществления изобретения 1, в котором антитело содержит переменную область легкой цепи и переменную область тяжелой цепи, причем указанная переменная область легкой цепи содержит:

аминокислотную последовательность определяющей комплементарность области легкой цепи 1 (CDRL1) SEQ ID NO: 4;

аминокислотную последовательность CDRL2 SEQ ID NO: 5; и

аминокислотную последовательность CDRL3 SEQ ID NO: 6,

причем указанная переменная область тяжелой цепи содержит:

аминокислотную последовательность определяющей комплементарность области тяжелой цепи 1 (CDRH1) SEQ ID NO: 1;

Аминокислотную последовательность CDRH2 SEQ ID NO: 2; и

аминокислотную последовательность CDRH3 SEQ ID NO: 3, и причем считается, что пациент ответил на лечение антителом.

8. Способ по варианту осуществления изобретения 7, в котором пациент продемонстрировал ответ на лечение антителом и его состояние соответствует клинической конечной точке, показанной ниже:

(i) изменение индекса активности болезни Крона (CAI) относительно исходного уровня;

(ii) клиническая ремиссия, определяемая как CDAI менее ($<$) 150 баллов;

(iii) клинический ответ, определяемый как снижение показателя CDAI на 100 или более (\geq) баллов относительно исходного уровня или CDAI $<$ 150;

(iv) ремиссия по сообщаемому пациентом результату (PRO)-2, определенная на основе среднесуточной частоты стула (ЧС) и среднесуточной оценки боли в области живота (БЖ);

(v) ответ по клиническим показателям и биомаркерам с использованием клинического ответа на основе оценки CDAI и снижения относительно

исходного уровня С-реактивного белка (CRP) или фекального кальпротектина.

- (vi) эндоскопический ответ на основе простого эндоскопического индекса активности болезни Крона (SES-CD);
- 5 (vii) эндоскопическая ремиссия на основе простого эндоскопического индекса активности болезни Крона (SES-CD).
- (viii) стойкая клиническая ремиссия на неделе 48, определяемая как показатель CDAI < 150 в большинстве случаев из всех посещений пациентом врача в период с недели 12 и до недели 48;
- 10 (ix) клиническая ремиссия без кортикостероидов на неделе 48, определяемая как CDAI < 150 на неделе 48, и отсутствие приема кортикостероидов на неделе 48.
- (x) реакция усталости, определяемая на основе информационной системы для оценки результатов, сообщаемых пациентом (PROMIS); и
- 15 (xi) эндоскопический ответ на основе простого эндоскопического индекса активности болезни Крона (SES-CD).
9. Способ по варианту осуществления изобретения 8, в котором клинический(-е) конечный(-е) показатель(-и) измеряют через 4, 8, 12, 16, 20, 28, 32, 36, 40, 44 и/или 48 недель после первоначальной дозы.
- 20 10. Способ по варианту осуществления изобретения 7, в котором антитело находится в композиции, содержащей 7,9% (масс./об.) сахарозы, 4,0 мМ гистидина, 6,9 мМ моногидрата моногидрохлорида L-гистидина; 0,053% (масс./об.) полисорбата 80 в фармацевтической композиции; причем разбавитель представляет собой воду в стандартном состоянии.
- 25 11. Способ по варианту осуществления изобретения 1, дополнительно включающий введение пациенту одного или более дополнительных лекарственных средств, применяемых для лечения болезни Крона.
12. Способ по варианту осуществления изобретения 11, в котором дополнительное лекарственное средство выбрано из группы, состоящей
- 30 из: иммуносупрессорных агентов, нестероидных противовоспалительных средств (НПВС), метотрексата (MTX), антител к поверхностному маркеру В-клеток, антител к CD20, ритуксимаба, ингибиторов ФНО, кортикостероидов и костимулирующих модификаторов.

13. Способ по варианту осуществления изобретения 1, в котором антитело содержит аминокислотную последовательность вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 8 и аминокислотную последовательность вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 7.
- 5 14. Способ по варианту осуществления изобретения 1, в котором антитело содержит аминокислотную последовательность легкой цепи SEQ ID NO: 10 и аминокислотную последовательность тяжелой цепи SEQ ID NO: 9.
- 10 15. Способ по варианту осуществления изобретения 1, в котором пациент показывает неэффективность или непереносимость биологической терапии (Bio-Failure) болезни Крона.
16. Способ по варианту осуществления изобретения 1, в котором пациент показывает неэффективность или непереносимость традиционной терапии (Con-Failure) болезни Крона.
- 15 17. Способ по варианту осуществления изобретения 1, в котором болезнь Крона представляет собой болезнь Крона от умеренной до тяжелой степени активности.
18. Способ по варианту осуществления изобретения 17, в котором у пациента имеются эндоскопические признаки активной болезни Крона до введения начальной дозы.
- 20 19. Способ по варианту осуществления изобретения 17, в котором пациент имеет болезнь Крона от умеренной до тяжелой степени активности в течение по меньшей мере трех месяцев до введения начальной дозы.
- 25 20. Способ лечения болезни Крона от умеренной до тяжелой степени активности у пациента, включающий (i) введение пациенту начальной подкожной дозы 400 мг специфического антитела к ИЛ-23, 400 мг подкожной дозы примерно 4 недель после начальной дозы и 400 мг подкожной дозы примерно 8 недель после начальной дозы, и (ii) дополнительное введение дозы 200 мг антитела примерно каждые 4 недели после введения дозы примерно через 8 недель или дозы 100 мг антитела примерно каждые 8 недель после введения дозы примерно
- 30 через 8 недель, причем антитело содержит аминокислотную последовательность вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 8 и аминокислотную последовательность вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 7, и пациент отвечает на антитело и идентифицирован

как соответствующий клинической конечной точке примерно через 12 недель после начальной дозы, причем клиническая конечная точка представляет собой клиническую ремиссию на неделе 12, определяемую как CDAI менее (<) 150 баллов или ответ, определенный по данным эндоскопии и измеренный по меньшей мере 50%-ным улучшением по сравнению с исходным уровнем по простой эндоскопической оценке болезни Крона (SES-CD).

ПРИМЕРЫ

10 Пример 1

Данные доклинических исследований, свидетельствующие о том, что ИЛ-23 является мишенью при лечении болезни Крона

15 **[0168]** В ходе генетических исследований и исследований на животных моделях изучали вклад ИЛ-12 и ИЛ-23 в патофизиологию болезни Крона. Результаты показывают, что ИЛ-23 играет преобладающую роль в воспалительных заболеваниях кишечника (ВЗК), а полученные новые данные свидетельствуют о том, что блокирование только ИЛ-23 может быть более эффективной стратегией лечения, чем блокирование одновременно ИЛ-12 и ИЛ-23.

20 **[0169]** Первоначальные наблюдения на основе данных, полученных в результате генетических исследований и исследований на моделях животных, позволяют предположить, что болезнь Крона опосредуется ИЛ-12 и/или ИЛ-23, возможно, посредством индуцируемых ими сигнальных путей Th1 и Th17 соответственно. Однако все больше данных свидетельствует о преобладающей роли ИЛ-23 в развитии болезни Крона. Исследования по полногеномному поиску ассоциаций выявили полиморфизмы в гене ИЛ-23R, которые ассоциированы с болезнью Крона. Роль ИЛ-23 в развитии воспаления кишечника была показана на нескольких моделях мышей. У мышей, получавших антитела к ИЛ-23, наблюдалось ослабление воспаления, а мыши с генетической делецией субъединицы ИЛ-23 p19 оказались защищены в нескольких моделях воспаления кишечника.

Клинический опыт применения нацеленной на ИЛ-12/23 терапии (устекинумаб) при болезни Крона

[0170] Программа фазы 3 исследования использования устекинумаба при болезни Крона включала два 8-недельных исследования по оценке эффективности и безопасности введения устекинумаба внутривенно (в/в) и одно поддерживающее исследование по оценке эффективности и безопасности подкожного (п/к) поддерживающего введения устекинумаба; общая продолжительность составила 52 недели лечения. Оценку устекинумаба проводили по всему спектру биологически приемлемых пациентов с болезнью Крона, т. е. пациентов, при лечении которых неэффективными оказались традиционная терапия или биологическая терапия. После однократного в/в введения устекинумаба в начальной дозе ~6 мг/кг на неделе 0 у приблизительно 21% и 40% участников исследования с неэффективностью традиционной и биологической терапии соответственно (по сравнению с примерно 7% и 20% участников исследования, получавших плацебо, соответственно) была достигнута клиническая ремиссия на неделе 8 (по оценке индекса активности болезни Крона [CDAI]). Среди участников, у которых наблюдался ответ на в/в введение устекинумаба и которые были повторно рандомизированы для получения поддерживающей терапии устекинумабом в виде п/к введения в дозе 90 мг каждые 8 недель (1 р/8 нед) или 90 мг каждые 12 недель (1 р/12 нед), примерно 53% и 49% участников находились в клинической ремиссии на неделе 52 соответственно, по сравнению с участниками, получавшими поддерживающую терапию с плацебо (36%).

Клинический опыт применения нацеленной на ИЛ-23 терапии при болезни Крона

[0171] Потенциальная терапевтическая роль ИЛ-23 в развитии болезни Крона была впервые установлена при клинических исследованиях антагонистов ИЛ-12/23p40 (бриакинумаб и устекинумаб). Устекинумаб (STELARA®) недавно был одобрен для лечения болезни Крона, протекающей в умеренной и тяжелой формах. Хотя эти подходы к лечению продемонстрировали, что блокада как ИЛ-12, так и ИЛ-23 эффективна при лечении болезни Крона, при их использовании не смогли установить относительный вклад 2 цитокинов.

[0172] В недавних исследованиях 2 антагонистов антител к ИЛ-23, рисанкизумаба (ранее BI-655066) и бразикумаба (ранее MEDI2070, AMG 139), были опубликованы результаты фазы 2, демонстрирующие эффективность блокады ИЛ-23 у участников с болезнью Крона от умеренной до тяжелой степени активности, эффективность в улучшении клинических признаков и симптомов, снижение воспалительных биомаркеров и улучшение эндоскопических параметров у участников, прежде всего, с болезнью Крона, рефрактерной к биологическим препаратам. Степень эффективности, наблюдаемая в каждом из этих исследований, дает основания предполагать, что есть потенциальная возможность повышения эффективности лечения по сравнению с лечением с использованием устекинумаба (к ИЛ-12/23), но с учетом ограниченности способа исследования по перекрестным сравнениям, а также сравнительно небольшого масштаба фазы 2 исследований ИЛ-23.

[0173] Исследование способом перекрестных сравнений частоты достижения клинической ремиссии при применении блокаторов к ИЛ-23 свидетельствует о потенциальной возможности увеличения эффективности лечения с указанными блокаторами по сравнению с лечением с использованием устекинумаба. Примечательно, что начальные дозы, использованные в исследованиях как рисанкизумаба (200 и 600 мг в/в на неделе 0, 4, 8, так и бразикумаба (700 мг в/в на неделе 0, 4), были значительно выше утвержденных доз устекинумаба (ок. 6 мг/кг в/в на неделе 0). Мета-анализ при перекрестном сравнении соединений показал, в частности, что дозировка рисанкизумаба может находиться на верхнем конце кривой зависимости дозозависимого ответа.

[0174] Кроме того, фаза 2 исследования с рисанкизумабом также показала, что частота ответа потенциально может не достигать максимума до истечения 6 месяцев лечения. При дозировке 600 мг в/в каждые 4 недели (1 р/4 нед) на срок до 6 месяцев примерно 50% частоты достижения клинической ремиссии наблюдали у всех пациентов, получавших лечение, что значительно выше, чем частота ремиссии, о которой ранее сообщалось, при лечении с использованием других препаратов, включая устекинумаб, в исследованиях с аналогичными группами, с аналогичными контрольными моментами времени наблюдения. Из тех участников, которые достигли ремиссии через 6 месяцев лечения и продолжали поддерживающую терапию рисанкизумабом (180 мг подкожно 1 р/8 нед), примерно 70% оставались в ремиссии через 1 год лечения.

[0175] В настоящее время клиническая программа GALAXI оценивает внутривенное (в/в) индукционное введение гуселькумаба с последующим подкожным (п/к) поддерживающим введением у участников с болезнью Крона от умеренной до тяжелой степени активности, которые продемонстрировали неадекватный ответ или непереносимость предшествующей традиционной 5 терапии или биологической терапии. В соответствии с протоколом GALAXI проводят 3 отдельных исследования (исследование фазы 2 GALAXI 1 и исследования фазы 3 GALAXI 2 и GALAXI 3). Результаты исследования GALAXI 1 показывают, что индукция гуселькумабом в/в продемонстрировала 10 более выраженное улучшение по сравнению с плацебо по ключевым показателям клинической эффективности и эндоскопическим параметрам на неделе 12.

Общее обоснование использования гуселькумаба при лечении болезни Крона

[0176] Таким образом, объединенные данные, полученные в результате 15 генетических и доклинических исследований, указывают на значимую роль селективного воздействия на ИЛ-23 при модуляции патофизиологии ВЗК (воспалительные заболевания кишечника (желудочно-кишечного тракта)). Имеющийся клинический опыт использования 2 антагонистов ИЛ-23 и установленные данные об утвержденном антагонисте ИЛ-12/23 (устекинумабе) 20 являются доказательствами механизма воздействия и доказательствами правильности концепции относительно нацеливания на ИЛ-23 при лечении болезни Крона соответственно. В совокупности имеющиеся данные подтверждают необходимость изучения гуселькумаба для его использования при 25 лечении болезни Крона.

[0177] В настоящем исследовании спонсор заинтересован в оценке п/к введения гуселькумаба для индукционной фазы лечения болезни Крона. Подкожная доставка биологических агентов стала ценной альтернативой в/в введению во многих областях заболевания. Хотя фармакокинетические (ФК) профили п/к и в/в путей введения различаются, п/к введение оказалось эффективным, 30 безопасным, хорошо переносимым и, как правило, предпочтительным для пациентов и медицинских работников из-за большей гибкости и простоты введения для пациентов или их опекунов в их предпочтительных условиях. Кроме того, п/к введение привело к снижению расходов на здравоохранение и использование ресурсов, связанных с доставкой лекарственных средств. Короче

говоря, п/к введение стало привлекательной альтернативой более инвазивным и трудоемким в/в вливаниям.

5 **[0178]** Принимая во внимание результаты GALAXI 1 и потенциальные преимущества п/к индукции для пациентов и систем здравоохранения, целью данного исследования является оценка эффективности, безопасности и ФК/фармакодинамического (ФД) профиля п/к индукционного введения гуселькумаба по сравнению с плацебо у участников с болезнью Крона от умеренной до тяжелой степени активности.

10 Клинический протокол

Название протокола — GRAVITI

15 **[0179]** Рандомизированное, двойное слепое, плацебо-контролируемое, многоцентровое исследование в параллельных группах для оценки эффективности и безопасности подкожной индукционной терапии гуселькумабом у участников с болезнью Крона от умеренной до тяжелой степени активности

Синописис

20 **[0180]** Краткое название: Исследование фазы 3 для оценки эффективности и безопасности подкожной индукционной терапии гуселькумабом у участников с болезнью Крона от умеренной до тяжелой степени активности

[0181] Термин «исследуемое лечение» во всем протоколе относится к исследуемому лекарственному средству.

25 ЦЕЛИ И КОНЕЧНЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ

30 **[0182]** Цели данного исследования заключаются в оценке эффектов гуселькумаба п/к при болезни Крона с тяжелой степенью активности. Конечные точки на неделе 12 будут основаны на сравнении объединенной группы индукционной дозы гуселькумаба (которая получала гуселькумаб в дозе 400 мг п/к на неделях 0, 4 и 8) с группой плацебо. Конечные точки на неделе 24 будут основаны на сравнении каждой группы гуселькумаба (гуселькумаб 400 мг п/к на неделях 0, 4 и 8, затем гуселькумаб 200 мг п/к каждые 4 недели [1 p/4 нед] в одной группе и 100 мг п/к каждые 8 недель [1 p/8 нед] в другой группе) с

группой плацебо. Третичные конечные точки включают, без ограничений, конечные точки, указанные ниже. Анализы будут проводиться в соответствующие моменты времени до недели 24.

5 Таблица 1

Цели	Конечные показатели
Первичные	
<input type="checkbox"/> Оценка эффективности, включая клиническую ремиссию и эндоскопический ответ, п/к индукционного введения гуселькумаба	<input type="checkbox"/> Клиническая ремиссия (оценка CDAI < 150) на неделе 12 <input type="checkbox"/> Эндоскопический ответ (улучшение $\geq 50\%$ относительно исходного уровня по показателям SES-CD) на неделе 12
Вторичные	
<input type="checkbox"/> Оценка эффективности гуселькумаба п/к по целому диапазону показателей	<input type="checkbox"/> Клиническая ремиссия на неделе 24 <input type="checkbox"/> Ремиссия PRO-2 (среднесуточный балл БЖ ≤ 1 и среднесуточный балл ЧС ≤ 3 и отсутствие ухудшения БЖ или ЧС относительно исходного уровня) на неделе 12 <input type="checkbox"/> Клинический ответ (снижение относительно исходного уровня CDAI ≥ 100 баллов или клиническая ремиссия) на неделе 12
<input type="checkbox"/> Оценка безопасности гуселькумаба п/к	<input type="checkbox"/> Обзор НЯ, таких как СНЯ и НЯ, приведших к прекращению исследуемого лечения
Третичные (анализы в соответствующие моменты времени до недели 24)	
<input type="checkbox"/> Оценка эффективности гуселькумаба п/к по целому диапазону показателей	<input type="checkbox"/> Клиническая ремиссия <input type="checkbox"/> Ремиссия PRO-2 <input type="checkbox"/> Клинический ответ <input type="checkbox"/> Клиническая ремиссия без кортикостероидов <input type="checkbox"/> Изменение оценки CDAI относительно исходного уровня <input type="checkbox"/> Оценка БЖ и ЧС, а также изменение оценки БЖ и ЧС относительно исходного уровня <input type="checkbox"/> Изменение оценки SES-CD относительно исходного уровня <input type="checkbox"/> Эндоскопическая ремиссия

	<input type="checkbox"/> Эндоскопическое заживление <input type="checkbox"/> Изменение гистологических оценок относительно исходного уровня
<input type="checkbox"/> Оценка воздействия гуселькумаба п/к на биомаркеры	<input type="checkbox"/> Изменение CRP и фекального кальпротектина относительно исходного уровня <input type="checkbox"/> Клинический биомаркерный ответ
<input type="checkbox"/> Оценка ФК и иммуногенности гуселькумаба п/к	<input type="checkbox"/> Концентрации гуселькумаба в сыворотке крови <input type="checkbox"/> Частота появления и титры антител к гуселькумабу
<input type="checkbox"/> Оценка воздействия гуселькумаба п/к на PRO	<input type="checkbox"/> Конечные точки на основе IBDQ, PROMIS-29, AP-NRS и BSFS
<p>Сокращения: НЯ = нежелательное явление; БЖ = боль в животе; AP-NRS = цифровая рейтинговая шкала боли в животе; BSFS = Бристольская шкала стула; CDAI = индекс активности болезни Крона; СРБ = С-реактивный белок; IBDQ = Опросник для оценки воспалительного заболевания кишечника; ФК = фармакокинетика; PRO = сообщаемый пациентом результат; PROMIS = Информационная система для измерения оценок результатов, полученных от пациентов; СНЯ = серьезное нежелательное явление; п/к = подкожно; SES-CD = простой эндоскопический индекс активности болезни Крона; ЧС = частота стула.</p>	

Гипотезы

[0183] Сопутствующие основные гипотезы данного исследования заключаются в том, что гуселькумаб превосходит плацебо в индуцировании клинической ремиссии на неделе 12, и гуселькумаб превосходит плацебо в индуцировании эндоскопического ответа на неделе 12 среди участников с болезнью Крона от умеренной до тяжелой степени активности.

ОБЩИЙ ДИЗАЙН

[0184] Это рандомизированное, двойное слепое, плацебо-контролируемое, многоцентровое исследование в параллельных группах для оценки эффективности и безопасности подкожного (п/к) индукционного введения гуселькумаба. Целевая популяция представляет собой взрослых участников с болезнью Крона от умеренной до тяжелой степени активности (продолжительностью по меньшей мере 3 месяца) с колитом, илеитом или илеоколитом, ранее подтвержденными посредством радиографии, гистологических методов и/или эндоскопии. Для участия в исследовании

участники также должны иметь эндоскопические доказательства активной болезни Крона и продемонстрировать неадекватный ответ или непереносимость предыдущей традиционной терапии (пероральные кортикостероиды или иммуномодуляторы азатиоприн [AZA], 6-меркаптопурин [6-MP] или метотрексат [MTX]; CON-Failure) или биологической терапии (инфликсимаб, адалимумаб, цертолизумаб пегол, ведолизумаб или одобренные биоаналоги для этих препаратов; BIO-Failure).

[0185] Две группы, основанные на предшествующих терапиях, включающие целевую популяцию, кратко описаны ниже.

10

Неэффективность или непереносимость традиционной терапии (CON-Failure)

[0186] Участники должны были продемонстрировать неадекватный ответ или непереносимость к по меньшей мере одному из следующих традиционных методов лечения болезни Крона: перорально вводимые кортикостероиды (включая преднизолон, будесонид и беклометазона дипропионат) или иммуномодуляторы азатиоприн (AZA), 6-меркаптопурин (6-MP) или метотрексат (MTX).

15

[0187] Участники, которые продемонстрировали зависимость от кортикостероидов (т. е. невозможность успешного снижения дозы кортикостероидов без возвращения симптомов болезни Крона), также подходят для участия.

20

[0188] Участники могут либо не иметь предыдущего опыта биологической терапии (т. е. инфликсимаб, адалимумаб, цертолизумаб пегол, ведолизумаб или одобренные биоаналоги для этих препаратов), либо могли получать биологическую терапию без признаков неадекватного ответа или непереносимости этой терапии.

25

Неэффективность или непереносимость биологической терапии (BIO-Failure)

[0189] Участники должны были продемонстрировать неадекватный ответ или непереносимость по меньшей мере 1 или более биологических препаратов (т. е. инфликсимаб, адалимумаб, цертолизумаб пегол, ведолизумаб или одобренные биоаналоги для этих препаратов) в дозе, которая представляет собой как минимум локально одобренную дозу для лечения болезни Крона. Неадекватный ответ определяется как: первичное отсутствие ответа (т. е. отсутствие

30

начального ответа) или вторичное отсутствие ответа (т. е. начальный ответ, который в последующем исчезает).

[0190] Участники, ранее получавшие препараты ИЛ-12/23 или ИЛ-23, не подходят для участия в данном исследовании.

5 **[0191]** В целом, в исследовании будет оцениваться п/к лечение гуселькумабом в течение 12 недель индукционной терапии и по меньшей мере 12 недель поддерживающей терапии. На неделе 24 все участники войдут в продленную фазу и получают лечение по той же схеме, которую они получали на неделе 24. Исследование будет расслеплено после того, как последний участник пройдет оценку на неделе 48 и будет завершена блокировка базы данных (DBL) на неделе 48. После расслепления исследования участники, принимавшие плацебо, которые не получали гуселькумаб в качестве резервной терапии, перестанут принимать исследуемый препарат и совершат окончательный визит в рамках последующего наблюдения за эффективностью и безопасностью (FES).
10 Все остальные участники продолжат лечение гуселькумабом до недели 96.

[0192] Общая продолжительность исследования составляет до 109 недель. Исследование содержит следующие фазы:

1. Фаза скрининга: до 5 недель
2. Основная фаза лечения: 24 недели
- 20 3. Продленная фаза лечения: 72 недели
4. Фаза после лечения (визит последующего наблюдения FES): примерно до 12 недель после последней дозы исследуемого препарата

[0193] В целом, участники, которые получают пероральные соединения 5-аминосалициловой кислоты, пероральные кортикостероиды, традиционные иммуномодуляторы (AZA, 6-MP или MTX), антибиотики и/или энтеральное питание для лечения болезни Крона на исходном уровне, должны принимать их в стабильной дозе в течение определенного периода до исходного уровня и до недели 48, за исключением пероральных кортикостероидов. Начиная с недели 12, все участники, принимавшие кортикостероиды на неделе 0, должны начать снижение своей дозы кортикостероидов. Такое снижение является обязательным, за исключением случаев, когда это нецелесообразно с медицинской точки зрения. Участники, досрочно прекратившие участие в исследовании, должны явиться в исследовательский центр по поводу прекращения исследуемого лечения (SID). Все рандомизированные участники
25
30

должны явиться в исследовательский центр для последующего наблюдения (FES) примерно через 12 недель после последней дозы исследуемого препарата.

5 [0194] Эффективность, безопасность, фармакокинетика (ФК), иммуногенность и биомаркеры будут оцениваться в соответствии с графиком мероприятий (SoA). Образец крови для фармакогеномического исследования будет взят только у участников, которые подписали согласие на данное исследование согласно протоколу (в случаях, когда это позволяют местные нормативные требования).

10 [0195] Блокировки базы данных запланированы на неделю 24, неделю 48 и когда последний участник завершит последнюю запланированную оценку, как показано в SoA. При необходимости могут быть добавлены дополнительные DBL.

КОЛИЧЕСТВО УЧАСТНИКОВ

15 [0196] Целевой размер выборки составляет 318 участников. Участники, у которых был неадекватный ответ или непереносимость биологической терапии, составят приблизительно от 35% до 65% популяции.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ГРУППЫ И ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТЬ

20 [0197] Общая продолжительность исследования составляет до 109 недель. Исследование содержит следующие фазы:

1. Фаза скрининга: до 5 недель
2. Основная фаза лечения: 24 недели
3. Продленная фаза лечения: 72 недели
- 25 4. Фаза после лечения (визит последующего наблюдения FES): примерно до 12 недель после последней дозы исследуемого препарата

[0198] На неделе 0 участники, подходящие для исследования, будут рандомизировано распределены в соотношении 1:1:1 для назначения одного из следующих режимов лечения п/к:

- 30 106 участников для введения гуселькумаба в дозе 400 мг п/к на неделях 0, 4 и 8, а затем гуселькумаба в дозе 200 мг п/к каждые 4 недели (1 р/4 нед) до недели 24

- 106 участников для введения гуселькумаба в дозе 400 мг п/к на неделях 0, 4 и 8, а затем гуселькумаба в дозе 100 мг п/к каждые 8 недель (1 р/8 нед) до недели 24
- 106 участников для введения плацебо п/к 1 р/4 нед с недели 0 по неделю 24

5

[0199] В таблице 2 приведено описание исследуемых препаратов.

Таблица 2

Название вмешательства	Гуселькумаб	Гуселькумаб	Плацебо
Состав дозы	Активный гуселькумаб 200 мг/2 мл в однократной дозе PFS-Y	Активный гуселькумаб 100 мг/1 мл в однократной дозе PFS-U	Соответствующее плацебо для каждой дозы и устройство (2 мл PFS-Y и 1 мл PFS-U)
Сила единичной дозы	п/к 200 мг	п/к 100 мг	Соответствующее плацебо для каждой дозы и устройства
Частота	1 р/4 нед	1 р/8 нед	Плацебо будет вводиться с той же частотой, что и активные препараты.
Путь введения	п/к	п/к	п/к
Хранение	Хранение при контролируемой температуре в диапазоне от 2 °C до 8 °C (от 36 °F до 46 °F) и в защищенном от воздействия света месте. Стерильный продукт не содержит консервантов и предназначен только для одноразового применения. Он должен быть от прозрачного до слегка желтого цвета и может содержать мелкие белые или прозрачные	Хранение при контролируемой температуре в диапазоне от 2 °C до 8 °C (от 36 °F до 46 °F) и в защищенном от воздействия света месте. Стерильный продукт не содержит консервантов и предназначен только для одноразового применения. Он должен быть от прозрачного до	Хранение при контролируемой температуре в диапазоне от 2 °C до 8 °C (от 36 °F до 46 °F) и в защищенном от воздействия света месте. Стерильный продукт не содержит консервантов и предназначен только для одноразового применения. Он должен быть от

Название вмешательства	Гуселькумаб	Гуселькумаб	Плацебо
	частицы. Его не следует использовать, если жидкость мутная или обесцвеченная или содержит крупные частицы. Защита от света не требуется во время подготовки и введения исследуемого препарата. Во время подготовки и введения исследуемого препарата необходимо использовать асептические процедуры.	слегка желтого цвета и может содержать мелкие белые или прозрачные частицы. Его не следует использовать, если жидкость мутная или обесцвеченная или содержит крупные частицы. Защита от света не требуется во время подготовки и введения исследуемого препарата. Во время подготовки и введения исследуемого препарата необходимо использовать асептические процедуры.	прозрачного до слегка желтого цвета и может содержать мелкие белые или прозрачные частицы. Его не следует использовать, если жидкость мутная или обесцвеченная или содержит крупные частицы. Защита от света не требуется во время подготовки и введения исследуемого препарата. Во время подготовки и введения исследуемого препарата необходимо использовать асептические процедуры.
Применение	Экспериментальный образец	Экспериментальный образец	Препарат сравнения плацебо
ИЛП	Да	Да	Да
НИЛП	Нет	Нет	Нет
Сокращения: ИЛП = исследуемый лекарственный препарат; НИЛП = неисследуемый лекарственный препарат; PFS-U = предварительно заполненный шприц с пассивной защитой иглы UltraSafe Plus™ PFS-Y = предварительно заполненный шприц с автоинъектором YpsoMate; 1 p/4 нед каждые 4 недели; 1 p/8 нед каждые 8 недель; п/к — подкожно			

[0200] Рандомизация будет стратифицирована по исходному индексу активности болезни Крона (CDAI) (≤ 300 или > 300), исходному простому эндоскопическому индексу активности болезни Крона (SES-CD) (≤ 12 или > 12) и статусу BIO-Failure (да или нет) на исходном уровне (неделя 0).

[0201] Во время продленной фазы все участники будут продолжать получать лечение по той же схеме, которую они получали на неделе 24.

[0202] После расслепления исследования после DBL на неделе 48 участников из группы плацебо, которые не получали гуселькумаб в качестве резервной терапии, прекратят лечение исследуемым препаратом и совершат визит последующего наблюдения FES. Все остальные участники продолжают лечение гуселькумабом до недели 96.

[0203] Все участники в группе плацебо, которые соответствуют по меньшей мере 1 критерию резервной терапии на неделях 12 и 16, получают эту терапию, т. е. гуселькумаб 400 мг п/к на неделях 16, 20 и 24 с последующим введением гуселькумаба в дозе 100 мг п/к каждые 8 недель (1 р/8 нед). Для поддержания заслепления участники, рандомизированные в группу гуселькумаба, которые соответствуют по меньшей мере 1 критерию резервной терапии, продолжают лечение по назначенной им схеме лечения и получают п/к инъекцию плацебо, имитирующую резервную терапию, в целях сохранения маскировки.

[0204] В исследовании поддерживающего лечения программы лечения болезни Крона устекинумабом в фазе 3 (IM-UNITI) спонсор оценил эффект корректировки однократной дозы устекинумаба (антагониста ИЛ-12/23) у участников с болезнью Крона. Участники были рандомизированы для назначения плацебо, устекинумаба 90 мг 1 р/12 нед или устекинумаба 90 мг 1 р/8 нед (утвержденная доза). В группе устекинумаба 90 мг 1 р/8 нед 28 участников соответствовали ранее установленным критериям потери ответа и им выполнили имитацию корректировки дозы. Через 16 недель у 32,1% была клиническая ремиссия, и через 16 недель у 46,4% — клинический ответ. Эти результаты демонстрируют, что некоторые участники с неадекватным/утраченным клиническим ответом могут извлечь пользу из продолжения введения дозы по одной и той же схеме с течением времени. Таким образом, в группах гуселькумаба в этом исследовании не будет корректировки дозы, а будет применяться имитация резервной терапии по схеме слепого исследования.

[0205] Схема п/к введения однократной дозы гуселькумаба (400 мг п/к на неделях 0, 4 и 8) была выбрана для этого исследования на основе данных исследования фазы 2 по определению диапазона доз гуселькумаба в/в при болезни Крона (GALAXI 1). Анализы GALAXI 1 на неделе 12 продемонстрировали аналогичную эффективность при индукционных дозах

гуселькумаба 1200 мг, 600 мг и 200 мг, вводимых в/в на неделях 0, 4 и 8 соответственно. Не было четкого ответа на дозу/воздействие в пределах диапазона испытанных индукционных доз в/в гуселькумаба. В результате для подтверждающей оценки в исследованиях фазы 3 гуселькумаба (GALAXI 2 и 3) была выбрана схема в/в индукционной дозы 200 мг.

[0206] С предполагаемой биодоступностью около 50% для гуселькумаба п/к (TREMFYA® SmPC 2021; TREMFYA® USPI 2020), ожидается, что п/к доза гуселькумаба 400 мг приведет к общему воздействию гуселькумаба (AUC), сопоставимому с в/в дозой 200 мг. Моделирование популяционной ФК и симуляция демонстрируют, что, хотя пиковые концентрации были выше при схеме в/в индукционной дозы 200 мг, минимальные концентрации после схемы п/к индукционной дозы 400 мг были не меньшими по сравнению со схемой в/в индукционной дозы. Опыт применения биологических препаратов, одобренных как для в/в, так и для п/к введения, показывает, что достижение одинакового общего воздействия (средняя равновесная концентрация исследуемого препарата в сыворотке [$C_{avg,ss}$]) с не меньшими минимальными концентрациями приводит к сопоставимой эффективности для обоих путей введения. Кроме того, пиковые концентрации в сыворотке в индукционный период не могут быть доминирующим фактором эффективности биологических препаратов при ВЗК. Учитывая это, однократную индукционную дозу гуселькумаба 400 мг п/к на неделях 0, 4 и 8 будут оценивать у участников с болезнью Крона от умеренной до тяжелой степени активности.

[0207] В этом исследовании будут оценены две схемы поддерживающей дозы гуселькумаба (200 мг п/к 1 р./4 нед и 100 мг п/к 1 р./8 нед). Это те же дозы, которые оценивают в текущих исследованиях GALAXI фазы 3. Выбор одинаковых схем поддерживающей дозы позволит провести перекрестное сравнение п/к индукции с последующей п/к поддерживающей схемой (в этом исследовании) и в/в индукцией с последующей п/к поддерживающей схемой (в исследованиях GALAXI). В целом, 2 схемы введения поддерживающей дозы гуселькумаба (т. е. 200 мг п/к 1 р./4 нед и 100 мг п/к 1 р./8 нед) обеспечат примерно 4-кратный диапазон доз воздействия, который должен способствовать оценке дозы/воздействия-ответа поддерживающей терапии при лечении болезни Крона.

[0208] Рандомизацию будут применять для того, чтобы свести к минимуму систематическую погрешность при распределении участников в группы лечения, повысить вероятность того, что известные и неизвестные характеристики участников (например, демографические и исходные характеристики) будут равномерно распределены по группам лечения, и чтобы повысить надежность статистических сравнений между группами лечения. Кроме того, чтобы свести к минимуму дисбаланс между группами лечения, рандомизация будет стратифицирована по факторам, влияющим на прогноз или ответ на лечение (т. е. стратифицирована по исходному показателю CDAI, оценке SES-CD и статусу BIO-Failure).

[0209] Скрининг для поиска пригодных для участия в исследовании участников будет проводиться в течение 5 недель до введения исследуемого препарата. Критерии включения и исключения для регистрации в исследовании участников описаны ниже.

15

Критерии включения

[0210] Каждый потенциальный участник должен удовлетворять всем приведенным ниже критериям для включения в исследование:

1. Мужчина или женщина (в соответствии с их репродуктивными органами и функциями, определяемыми хромосомным набором) возрастом ≥ 18 лет (или установленным законом возрастом для согласия в юрисдикции, в которой проводят исследование).
2. Наличие болезни Крона или фистулизирующей болезни Крона продолжительностью по меньшей мере 3 месяца (как минимум 12 недель) с колитом, илеитом или илеоколитом, подтвержденными в любое время в прошлом посредством радиографии, гистологических методов и/или эндоскопии.
3. Наличие клинически активной болезни Крона, определяемой как исходный показатель CDAI ≥ 220 баллов, но ≤ 450 баллов, и либо:
 - a. Среднесуточный показатель ЧС > 4 , определяемый по невзвешенному компоненту CDAI частоты жидкого или очень мягкого стула

30

ИЛИ

- b. Среднесуточный показатель БЖ > 2 , определяемый по невзвешенному компоненту CDAI БЖ
4. Наличие эндоскопических доказательств активной болезни Крона с поражением подвздошной и толстой кишки по результатам центральной оценки результатов эндоскопии при скрининговой эндоскопии, определяемых как скрининговая оценка SES-CD ≥ 6 (или ≥ 4 для участников с изолированным заболеванием подвздошной кишки), на основе наличия язв на по меньшей мере 1 из 5 участков толстой и подвздошной кишки, что приводит к следующим установленным оценкам компонентов язвы:
- а. минимум 1 балл по компоненту «размер язв»;
- И**
- б. минимум 1 балл по компоненту «изъязвленная поверхность».
5. Участник, у которого был обширный колит в течение ≥ 8 лет или заболевание, ограниченное сегментом толстой кишки, в течение ≥ 10 лет, должен:
- а. был пройти полную колоноскопию для оценки наличия дисплазии в течение 1 года до введения первой дозы исследуемого препарата;
- ИЛИ**
- б. пройти полную колоноскопию с контрольной биопсией на предмет дисплазии в качестве исходной эндоскопии в период скрининга. Результаты этих контрольных биопсий должны быть отрицательными на дисплазию (низкой степени, высокой степени или «неопределенная дисплазия при реактивной атипии») до введения первой дозы исследуемого препарата.

Прохождение одновременной или предшествующей лекарственной терапии

- б. Предыдущий или текущий препарат для лечения болезни Крона должен включать по меньшей мере 1 из следующего:
- а. текущее лечение пероральными кортикостероидами (включая будесонид и беклометазона дипропионат) и/или иммуномодуляторами (AZA, 6-MP, MTX);

ИЛИ

- b. отсутствие ответа или непереносимость по меньшей мере 1 из следующих видов терапии в анамнезе: пероральный прием кортикостероидов (включая будесонид и беклометазона дипропионат) или иммуномодуляторов (AZA, 6-MP, MTX);

5 **ИЛИ**

- c. зависимость от кортикостероидов в анамнезе (т. е. невозможность успешного снижения дозы кортикостероидов без возвращения симптомов болезни Крона);

ИЛИ

- 10 d. демонстрируемое ранее отсутствие исходного ответа (т. е. первичное отсутствие ответа), или наличие исходного ответа с последующей его потерей при продолжении терапии (т. е. вторичное отсутствие ответа), или непереносимость 1 или более биологических агентов в дозах, которые представляют собой как минимум локально одобренную дозу для лечения болезни Крона (т. е. инфликсимаб, адалимумаб, цертолизумаб пегол, ведолизумаб или одобренные биоаналоги для этих препаратов).
- 15

Примечание. Участники, соответствующие критериям ба–с, могут либо не иметь опыта биологической терапии (т. е. инфликсимаб, адалимумаб, цертолизумаб пегол, ведолизумаб или одобренные биоаналоги для этих препаратов), либо ранее получать такую биологическую терапию без признаков неадекватного ответа или непереносимости.

20

7. Необходимо соблюдать все из представленных ниже требований к использованию сопутствующих лекарственных средств для лечения болезни Крона. Следующие лекарственные средства разрешены, при условии, что дозы, соответствующие перечисленным ниже требованиям, являются стабильными или прием их был прекращен до начала исследования в указанные ниже сроки:
- 25

- 30 a. соединения 5-АСК для перорального приема в стабильных дозах в течение по меньшей мере 2 недель; или если прием лекарственного средства был недавно прекращен, эта отмена приема должна произойти по меньшей мере за 2 недели до начала исследования.

- b. кортикостероиды для перорального приема в дозе, эквивалентной дозе преднизолона в 40 мг/сутки или ниже, или 9 мг/сутки

- будесонида, или 5 мг/сутки беклометазона дипропионата, причем дозы должны быть стабильными в течение по меньшей мере 2 недель; или если прием лекарственного средства был недавно прекращен, эта отмена приема должна произойти по меньшей мере за 2 недели до начала исследования.
- 5
- c. традиционно используемые иммуномодуляторы (например, AZA, 6-MP или MTX) в течение по меньшей мере 12 недель и в стабильной дозе в течение по меньшей мере 4 недель; или если прием лекарственного средства был недавно прекращен, эта отмена приема должна произойти по меньшей мере за 4 недели до начала исследования.
- 10
- d. при приеме антибиотиков в качестве первичного лечения болезни Крона дозы должны быть стабильными в течение по меньшей мере 3 недель; или если прием лекарственного средства был недавно прекращен, эта отмена приема должна произойти по меньшей мере за 3 недели до начала исследования;
- 15
- e. при получении энтерального питания в качестве первичного лечения болезни Крона такое лечение должно продолжаться в течение по меньшей мере 2 недель; или если прием лекарственного средства был недавно прекращен, эта отмена приема должна произойти по меньшей мере за 2 недели до начала исследования.
- 20

Скрининговые лабораторные исследования

8. Наличие результатов скрининговых лабораторных тестов в пределах указанных ниже параметров, и если 1 или более лабораторных параметров выходят за пределы указанного диапазона, разрешается однократное повторное лабораторное тестирование показателей в течение приблизительно 5-недельного периода скрининга:
- 25
- a. гемоглобин $\geq 8,0$ г/дл;
- 30
- b. лейкоциты (WBC) $\geq 3,0 \times 10^3$ /мкл;
- c. нейтрофилы $\geq 1,5 \times 10^3$ /мкл;
- d. тромбоциты $\geq 100 \times 10^3$ /мкл;
- e. сывороточный креатинин $\leq 1,5$ мг/дл;

- f. аланинтрансаминаза (АЛТ) (или аспартаттрансаминаза [АСТ]) ≤ 2 x верхняя граница нормы (ВГН);
- g. общий билирубин (ТBili) $\leq 1,5$ x ВГН (отдельный общий билирубин $>1,5$ x ВГН допускается для участников с известным синдромом Жильбера. Синдром Жильбера предполагает наличие прямого билирубина $<30\%$.)

Туберкулез

[0211] Потенциальный участник считается подходящим, если он соответствует всем следующим критериям скрининга на ТВ:

Примечание. Анализ высвобождения гамма-интерферона (IGRA) включает QuantiFERON-TB® или T-Spot®.TB.

- a. в анамнезе отсутствует активная форма ТВ или отсутствуют признаки или симптомы, указывающие на активный ТВ при сборе анамнеза и/или физическом осмотре при скрининге;
- b. перед скринингом в анамнезе отсутствует латентная форма ТВ. Исключение делается для участников, у которых в анамнезе есть латентный туберкулез И которые удовлетворяют одному из следующих критериев:
1. в настоящее время проводится лечение от латентной формы ТВ;
- ИЛИ**
2. планируется начать лечение латентной формы ТВ до введения первой дозы исследуемого препарата.

Примечание. В отношении участников с анамнезом лечения латентной формы ТВ перед первым введением исследуемого препарата должна быть документация о соответствующем лечении. Исследователь несет ответственность за проверку правильности предыдущего лечения ТВ и обеспечение соответствующей документации. Тестирование IGRA не требуется при скрининге для участников с анамнезом лечения латентного туберкулеза или продолжающих лечение латентного туберкулеза.

- c. в последнее время не было тесного контакта с лицом, имеющим активную форму ТВ. В случае контакта таких участников направляют к врачу, специализирующемуся на ТВ, чтобы определить, требуется ли

лечение. Эта оценка должна быть надлежащим образом задокументирована, и, если лечение рекомендовано, участник должен пройти соответствующее лечение до первого введения исследуемого препарата.

5 d. наличие отрицательного результата теста IGRA в течение 2 месяцев до первого введения исследуемого препарата или:

1. Наличие в анамнезе адекватного лечения латентной формы ТВ, как описано выше.

10 2. Наличие недавно выявленного положительного результата теста IGRA, при котором активная форма ТВ была исключена и было начато соответствующее лечение латентной формы ТВ до первого введения исследуемого препарата.

3. Наличие ложноположительного результата теста IGRA, что определяется следующим:

15 При подозрении на ложноположительный результат первоначальный тест IGRA необходимо повторить. Если повторный тест НЕ дает положительного результата, участника необходимо направить к врачу, специализирующемуся на ТВ, чтобы определить, можно ли считать первоначальный тест
20 ложноположительным. Эта оценка должна быть надлежащим образом задокументирована до первого введения исследуемого препарата. Однако если повторный тест окажется положительным, он будет считаться истинно положительным, и участник имеет право на участие только в том случае, если
25 исключена активная форма ТВ и начато соответствующее лечение латентной формы ТВ, как описано выше.

Примечание. В случае неопределенных/пограничных результатов следует

30 e. Сделать рентгенограмму грудной клетки (как задне-переднюю, так и боковую проекцию или в соответствии с местными/национальными правилами, где это применимо) или компьютерную томографию (КТ) грудной клетки в течение 3 месяцев до первого введения исследуемого препарата, которая не выявит отклонений, указывающих на активную или неактивную форму ТВ.

Контрацепция

9. Женщина с репродуктивным потенциалом должна иметь отрицательный результат теста сыворотки на беременность во время скрининга и на исходном уровне исследования.

5 10. Перед рандомизацией женщина должна:

a. не обладать репродуктивным потенциалом;

ИЛИ

b. обладать репродуктивным потенциалом и

10 в случае гетеросексуальной активности использовать высокоэффективный способ контрацепции (частота неудач < 1% в год при постоянном и правильном использовании) и согласиться на продолжение использования высокоэффективного способа контрацепции во время проведения исследования и в течение 12 недель после введения последней дозы, т. е. до

15 окончания соответствующего системного воздействия.
Примечание. Выбранный способ должен соответствовать местным/региональным нормам/руководствам по высокоэффективной контрацепции.

20 Примечание. Если репродуктивный потенциал участницы изменяется после начала исследования (например, у женщины в состоянии пременопаузы наступает состояние менопаузы) или изменяется риск наступления беременности (например, женщина, не являющаяся гетеросексуально активной, становится активной), женщина должна начать использовать высокоэффективный способ контрацепции.

25 11. Женщина должна согласиться на отказ от донорства яйцеклеток (женских половых клеток, ооцитов) для искусственного оплодотворения во время исследования и в течение 12 недель после получения последней дозы исследуемого препарата.

30 12. Во время исследования и в течение по меньшей мере 12 недель после получения последней дозы исследуемого препарата участник мужского пола:

a. который ведет половую жизнь с женщиной детородного возраста, должен согласиться на применение барьерного способа контрацепции (т. е. презерватива со спермицидной

пенной / гелем / пленкой / кремом / суппозиторием или женского презерватива / преграждающего колпачка [мембраны или шеечного / влагалищного колпачка] со спермицидной пеной / гелем / пленкой / кремом / суппозиторием);

5 b. который ведет половую жизнь с беременной женщиной, должен использовать презерватив.

13. Должен согласиться не сдавать сперму для воспроизводства. Каждый участник должен подписать форму информированного согласия (ФИС), указывая, что понимает цели и процедуры, которые требуются для исследования, и добровольно участвует в исследовании.

10 Примечание. В регионах, где законный возраст согласия превышает 18 лет, информированное согласие должно быть получено как от участника, так и его законного представителя и подписано ими.

14. Необходимо подписать отдельную ФИС, если участник или участница согласится предоставить необязательную пробу ДНК для исследования (если это разрешено местным законодательством). Отказ от предоставления согласия на взятие необязательной пробы ДНК не исключает возможности участия субъекта в клиническом исследовании.

15 Примечание. В регионах, где законный возраст согласия превышает 18 лет, информированное согласие должно быть получено как от участника, так и его законного представителя и подписано ими.

20 15. Быть готовым и способным соблюдать все указанные требования, включая, без ограничений, получение оценок, соблюдение графика посещений и соблюдение ограничений образа жизни.

25

Критерии исключения

[0212] Любой потенциальный участник, удовлетворяющий любому из следующих критериев, будет исключен из исследования:

30 1. Имеет осложнения болезни Крона, такие как симптоматические стриктуры или стенозы, синдром короткой кишки или любые другие проявления, которые могут потребовать хирургического вмешательства, могут препятствовать использованию CDAI для оценки ответа на терапию или, возможно, осложнят возможность оценить эффект лечения гуселькумабом.

2. В настоящее время имеется или подозревается наличие абсцесса. Недавние кожные и перианальные абсцессы не являются поводом для исключения из исследования, если они дренированы и адекватно пролечены по меньшей мере за 3 недели до начала исследования или за 8
5 недель до начала исследования при внутрибрюшных абсцессах, при условии, что нет прогнозируемой необходимости в каком-либо дальнейшем хирургическом вмешательстве. Участники с активными фистулами могут быть включены в исследование, если нет прогнозируемой необходимости в каком-либо хирургическом
10 вмешательстве, а в настоящее время не выявлено наличия абсцессов.
3. Перенес любую резекцию кишечника в пределах 24 недель или любую другую внутрибрюшную или другую серьезную операцию в течение 12 недель до первой дозы исследуемого препарата.
4. Имеет дренирующую (т. е. функционирующую) стому или остому.
- 15 5. Наличие при скрининговой эндоскопии аденоматозных полипов толстой кишки, если они не были удалены до начала участия в исследовании, или наличие в анамнезе аденоматозных полипов толстой кишки, которые не были удалены.
6. Имеет положительный результат посева кала или другого исследования на наличие кишечных патогенов, включая токсин *Clostridioides difficile* (ранее известный как *Clostridium difficile*), в течение 4 месяцев до приема первой дозы исследуемого препарата, если повторное исследование не дает отрицательных результатов и нет признаков продолжающейся инфекции этим патогеном.
- 20
- 25 Примечание. Лечение и повторное испытание могут происходить в текущий период скрининга.

Прохождение одновременной или предшествующей лекарственной терапии

7. Получал какие-либо из следующих предписанных лекарств или
30 препаратов в пределах указанного периода:
- а. в/в введение кортикостероидов в пределах 3 недель от исходного уровня;
 - б. циклоsporин, такролимус, сиролимус или микофенолата мофетил в пределах 8 недель от исходного уровня;

- с. 6-тиогуанин в пределах 4 недель от исходного уровня;
- d. биологические агенты:
1. препараты против ФНО- α (например, инфликсимаб, этанерцепт, цертолизумаб пегол, адалимумаб, голимумаб) в пределах 8
5 недель от исходного уровня;
 2. ведолизумаб в пределах 12 недель от исходного уровня;
 3. другие иммуномодулирующие биологические агенты, включая одобренные и исследуемые биологические агенты, в течение 12
10 недель от начала исследования или в пределах 5 периодов полувыведения перед началом исследования, в зависимости от того, что дольше;
- e. любой исследуемый препарат, применявшийся в пределах 4 недель от начала исследования или в пределах 5 периодов полувыведения перед началом исследования, в зависимости от того, что дольше;
- 15 f. терапия неаутологичными стволовыми клетками (например, Prochymal), натализумаб, эфализумаб или биологические препараты, истощающие В- или Т-клетки (например, ритуксимаб, алемтузумаб или визилизумаб), применявшаяся в пределах 12 месяцев от исходного уровня;
- 20 g. лечение болезни Крона с помощью афереза (например, афереза Adacolumn) или полного парентерального питания в пределах 3 недель от начала исследования.
- 25 8. Получал ранее биологический агент, нацеленный на ИЛ-12/23 или ИЛ-23, включая, без ограничений, бриакинумаб, бразикумаб, гуселькумаб, мирикизумаб и рисанкизумаб.

При инфекциях или предрасположенности к инфекциям:

- 30 9. Наличие в анамнезе перед проведением скрининга латентной или активной гранулематозной инфекции, включая гистоплазмоз или кокцидиоидомикоз. Участники с рентгенологическими признаками возможного предшествующего гистоплазмоза или кокцидиоидомикоза будут исключены.
10. Наличие в анамнезе или в настоящее время хронического или рецидивирующего инфекционного заболевания, включая, без

ограничений, синусно-пульмональные инфекции, бронхоэктазы, рецидивирующие инфекции почек/мочевыводящих путей (например, пиелонефрит, цистит), открытую, дренированную или инфицированную кожную рану или язву.

- 5 11. Рентгенограмма грудной клетки должна быть получена в течение 12 недель до первой дозы исследуемого препарата. Результаты, показывающие отклонения, заставляющие предположить недиагностированную легочную патологию, включая, без ограничений, злокачественную опухоль, ранее не распознанную легочную патологию, а также активную или латентную инфекцию ТВ, гистоплазмоз или кокцидиомикоз, будут поводом для исключения из исследования. Вместо рентгенограммы грудной клетки также допускается КТ грудной клетки, сделанная без протокола. Информацию о пригодности к участию с наличием в анамнезе скрытого ТВ см. в критериях включения 9.
- 10
12. Наличие в анамнезе положительного результата теста на антитела к вирусу иммунодефицита человека (ВИЧ) или положительный результат на ВИЧ при скрининге.
- 15 13. В случае серопозитивности на антитела к вирусу гепатита С (ВГС), кроме случаев соответствия одному из следующих условий:
- 20 а. в анамнезе имеется успешное лечение, определяемое как отрицательный результат на РНК ВГС через по меньшей мере 12 недель после завершения противовирусного лечения, и имеется отрицательный результат теста на РНК ВГС при скрининге,
- ИЛИ**
- 25 б. в случае серопозитивности имеет отрицательный результат теста на РНК ВГС по меньшей мере за 12 недель до скрининга и отрицательный результат теста на РНК ВГС при скрининге.
14. При наличии положительного результата теста на инфекцию вируса гепатита В (ВГВ) (Приложение 4 [Раздел 10.4]).

30 Примечание. Для участников, которые не имеют права на участие в этом исследовании из-за результатов тестов на ВИЧ, ВГС или ВГВ, рекомендуется консультация с врачом, имеющим опыт лечения этих инфекций.

15. Вакцинация бациллой Кальметта-Герена (БЦЖ) в течение 12 месяцев или любой другой живой бактериальной или вирусной вакциной течение 4 недель до скрининга, или планирование введения таких вакцин во время исследования.
- 5 16. Имеется или в прошлом была перенесена нетуберкулезная микобактериальная инфекция или клинически значимая оппортунистическая инфекция (например, цитомегаловирусный колит, пневмоцистоз, инвазивный аспергиллез).
- 10 17. Перенесенная клинически значимая инфекция (например, гепатит, сепсис, пневмония или пиелонефрит), госпитализация из-за инфекции или лечение парентеральными антибиотиками в связи с инфекцией в течение 8 недель до введения первой дозы исследуемого препарата. Вылеченные и разрешенные инфекции, которые не считаются клинически значимыми по усмотрению исследователя, не должны быть
- 15 поводом для исключения из исследования (т. е. острая инфекция верхних дыхательных путей, неосложненная инфекция мочевыводящих путей).
- 20 18. Имеются текущие признаки или симптомы клинически значимой инфекции. Текущие инфекции, не считающиеся клинически значимыми по усмотрению исследователя, не должны быть поводом для исключения из исследования (т. е. острая инфекция верхних дыхательных путей, неосложненная инфекция мочевыводящих путей).
19. Имеются признаки инфекции опоясывающего герпеса в течение 8 недель до введения первой дозы исследуемого препарата.
- 25 20. В течение 6 недель до начала исследования было ЛЮБОЕ из (а) подтвержденной инфекции тяжелого острого респираторного синдрома, вызванного коронавирусом-2 (SARS-CoV-2) (коронавирусная болезнь 2019 [COVID-19]) (положительный результат теста), ИЛИ (b) подозрения на инфекцию SARS-CoV-2 (клинические особенности без документированных результатов анализов), ИЛИ (c) тесного контакта с
- 30 лицом с известной или подозреваемой инфекцией SARS-CoV-2.
- Исключение.** Включение возможно при наличии документально подтвержденного отрицательного результата валидированного теста на SARS-CoV-2.

- а. Полученного через по меньшей мере 2 недели после состояний (а), (b), (с), указанных выше (время от разрешения ключевых клинических признаков, если таковые имеются, например, лихорадки, кашля, одышки);

5

И

- б. При отсутствии ВСЕХ состояний (а), (b), (с), указанных выше, в период между отрицательным результатом теста и визитом исходного уровня в рамках исследования

Примечание об исключении, связанном с COVID-19.

10

- Область тестирования на COVID-19 (на наличие вируса SARS-CoV-2 и иммунитета к нему) быстро развивается. Дополнительное тестирование может быть проведено в рамках скрининга и/или во время исследования, если исследователь сочтет это необходимым и в соответствии с действующими нормативными актами / руководствами органов власти / стандартами медицинского обслуживания.

15

- Меры предосторожности: тем, у кого возможен более высокий риск тяжелого заболевания COVID-19, необходимо следовать указаниям местных органов здравоохранения при взвешивании потенциальных преимуществ и рисков участия в исследовании, а также во время участия в исследовании.

20

Злокачественные опухоли или повышенный потенциал появления злокачественных опухолей:

25

21. Наличие злокачественной опухоли в настоящее время или наличие злокачественной опухоли в анамнезе в пределах 5 лет до проведения скрининга (за исключением немеланомного рака кожи, который был адекватно пролечен без признаков рецидива в пределах по меньшей мере 3 месяцев (по меньшей мере 12 недель) до получения первой дозы исследуемого препарата, или рака шейки матки in situ, который был пролечен без признаков рецидива в пределах по меньшей мере 3 месяцев до первой дозы исследуемого препарата).

30

22. Наличие в анамнезе лимфопролиферативного заболевания, включая лимфому, моноклональной гаммапатии неопределенной значимости; или

признаки и симптомы, указывающие на возможное лимфопролиферативное заболевание, такое как лимфаденопатия или спленомегалия.

5 Сопутствующие медицинские состояния или анамнез перенесенных заболеваний

- 10 23. Наличие в анамнезе тяжелых, прогрессирующих или неконтролируемых почечных, мочеполовых, гематологических, эндокринных, сердечных, сосудистых, легочных, ревматологических, неврологических, психических или метаболических нарушений или их признаков и симптомов.
24. Наличие трансплантированного органа (за исключением пересадки роговицы более чем за 12 недель до проведения скрининга).
- 15 25. Плохая переносимость венопункции или отсутствие адекватного венозного доступа для необходимого взятия образцов крови в течение периода исследования.
26. Анамнез злоупотреблении наркотиками или алкоголем в соответствии с критериями Диагностического и статистического руководства по расстройствам (5-е издание) в пределах 1 года до скрининга.
- 20 27. Наличие нестабильных суицидальных мыслей или суицидального поведения в течение последних 6 месяцев, которые могут быть определены по шкале оценки тяжести суицидальных наклонностей Колумбии (C-SSRS) при скрининге: суицидальные мысли с намерением действовать («уровень мышления 4»), суицидальная направленность с конкретным планом и намерением («уровень мышления 5») или суицидальное поведение (фактическая попытка самоубийства, прерванная попытка самоубийства, остановка до начала реализации попытки самоубийства или подготовка к совершению попытки самоубийства), а также мнение исследователя, который, ориентируясь на оценку, проведенную психиатром, отмечает определенный риск попытки самоубийства. Кроме того, не могут быть рандомизированы участники с рейтингами по шкале C-SSRS «желание смерти» («уровень мышления 1»), «неконкретные активные суицидальные мысли» («уровень мышления 2»), «активная суицидальная направленность мышления с любыми методами» (без конкретного плана) без намерения действовать
- 25
- 30

(«уровень мышления 3») или с несуицидальным самоповреждающим поведением, которые, по мнению исследователя, относятся к группе риска.

5 28. Известная аллергия, гиперчувствительность или непереносимость гуселькумаба или его вспомогательных веществ.

29. Для женщины — наличие беременности, или грудного вскармливания, или планирование беременности во время участия в данном исследовании или в пределах 12 недель после введения последней дозы исследуемого препарата.

10 30. Для мужчины — планирование зачатия ребенка во время участия в этом исследовании или в пределах 12 недель после введения последней дозы исследуемого препарата.

Общее

15 31. Участие в настоящее время или намерение участвовать в любом другом исследовании с использованием исследуемого агента или процедуры во время проведения данного исследования.

20 32. Какое-либо состояние, в связи с которым, по мнению исследователя, участие не принесет пользы данному участнику (например, ухудшит самочувствие) или которое может препятствовать, ограничивать или искажать предусмотренные в протоколе оценки.

25 33. Факт того, что субъект является подчиненным сотрудником исследователя или работником исследовательского центра, непосредственно участвующим в намеченном исследовании или в других исследованиях под руководством данного исследователя или исследовательского центра, а также членом семьи исследователя или кого-либо из подчиненных сотрудников данного исследователя.

[0213] Считается, что продолжительность исследования 24 недели достаточна для оценки эффективности и безопасности п/к индукции с последующим п/к поддерживающим лечением гуселькумабом при болезни Крона. Режим дозирования гуселькумаба после недели 8 в данном исследовании идентичен схеме дозирования в продолжающихся исследованиях при болезни Крона 3-й фазы с введением гуселькумаба (GALAXI 2 и 3). После недели 24 не ожидается никаких различий в концентрациях и воздействии гуселькумаба

между схемами индукционного дозирования 400 мг п/к (в данном исследовании) и 200 мг в/в (GALAXI). Следовательно, данное исследование представляет собой 24-недельное исследование с продлением на 72 недели. Продление предоставит участникам, которые, по мнению исследователя, получают пользу от вмешательства в рамках исследования, доступ к лечению примерно на 2 года. Фаза последующего наблюдения (примерно через 12 недель после введения последней дозы исследуемого препарата) предназначена для оценки окончательных данных по эффективности и безопасности, а также для сбора образцов для определения ФК и антител к гуселькумабу.

10

Сбор биомаркеров и ДНК

[0214] Образцы биомаркеров (если это разрешено местным законодательством) будут собраны для оценки клеточного и молекулярного механизма действия гуселькумаба, или помогут объяснить межиндивидуальную вариабельность клинических результатов, или могут помочь выявить подгруппы популяции, которые имеют разный ответ на препарат. Биомаркеры сыворотки будут собраны из цельной крови у всех участников для оценки ФД маркеров, связанных с путем ИЛ-23, и с ответом на гуселькумаб. У всех участников будут взяты образцы цельной крови для оценки влияния препарата в рамках исследования на профили экспрессии рибонуклеиновой кислоты (РНК). Всем участникам также будет выполнена биопсия подвздошной и толстой кишки для оценки клеточных и молекулярных изменений в ткани слизистой оболочки кишечника. Целью анализа биомаркеров является дальнейшее определение механизма действия селективной блокады ИЛ-23 гуселькумабом при болезни Крона и помощь в оценке взаимосвязи препарата и клинического ответа.

[0215] Планируется дополнительное фармакогеномическое исследование. Признано, что генетическая изменчивость может быть важным фактором, способствующим межиндивидуальным различиям в распределении препарата и ответа, а также может служить маркером восприимчивости к заболеваниям и прогноза. Целью фармакогеномического компонента является сбор ДНК, позволяющий идентифицировать генетические факторы, которые могут влиять на ФК, ФД, эффективность, безопасность или переносимость гуселькумаба, а также выявить генетические факторы, связанные с болезнью Крона или ответом на лечение гуселькумабом. В центре внимания данного анализа будет оценка

генетических однонуклеиновых полиморфизмов, связанных с болезнью Крона и ответом на лечение гуселькумабом.

[0216] Образцы для анализа биомаркеров и ДНК также можно использовать для решения возникающих проблем и обеспечения более безопасного, эффективного и, в конечном счете, индивидуализированного лечения в будущем.

Сообщаемый пациентом результат по связанному со здоровьем качеству жизни

[0217] Оценки результатов, сообщаемых пациентами (например, IBDQ, PROMIS-29), будут использоваться для оценки преимуществ лечения гуселькумабом в отношении качества жизни, связанного с конкретным заболеванием и общим состоянием здоровья (HRQOL). Оценки результатов, сообщаемых пациентами, собираются только в тех странах, где доступны преобразования оценок.

Снижение дозировок пероральных кортикостероидов

[0218] Участники, принимающие кортикостероиды, будут проходить обязательное постепенное снижение дозы, начиная с недели 12, в соответствии с заранее определенным рекомендуемым графиком постепенного снижения дозы, учитывая, что достижение клинической ремиссии без кортикостероидов является важной целью терапии.

Описание вмешательств

[0219] Гуселькумаб будет предоставляться в 2 дозировках: гуселькумаб 200 мг/2 мл в предварительно заполненном однодозовом шприце с автоинъектором YpsoMate (PFS-Y) и 100 мг/1 мл в предварительно заполненном однодозовом шприце с пассивным предохранителем иглы UltraSafe Plus™ (PFS-U). Соответствующее плацебо будет предоставляться в виде 2 мл в однократной дозе PFS-Y и в виде 1 мл в однократной дозе PFS-U.

ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ

[0220] Оценка эффективности будет включать следующее:

- CDAI;
- PRO-2 (невзвешенные компоненты CDAI, общей частоты жидкого или очень мягкого стула, и оценка частоты случаев боли в области живота [БЖ]);
- эндоскопические оценки слизистой оболочки кишечника на основании наличия и отсутствия язв слизистой оболочки и SES-CD;
- гистологические оценки;
- воспалительные фармакодинамические (ФД) маркеры, включая С-реактивный белок (СРБ) и фекальный кальпротектин;
- оценка фистул;
- PRO-меры для оценки связанных со здоровьем результатов качества жизни, включая Опросник для оценки воспалительного заболевания кишечника (IBDQ) и Информационную систему для оценки результатов, сообщаемых пациентом (PROMIS)-29;
- показатели симптомов, сообщаемые пациентами, включая Бристольскую шкалу стула (BSFS) и БЖ-цифровую шкалу оценки (NRS).

ОЦЕНКА ФАРМАКОКИНЕТИКИ

[0221] Образцы сыворотки будут проанализированы для определения концентраций гуселькумаба с помощью прошедших валидацию, специфических и чувствительных способов иммуноанализа спонсором или под его наблюдением.

ОЦЕНКА ФАРМАКОГЕНОМИКИ (ДНК)

[0222] Образец крови для фармакогеномического исследования будет взят только у участников, давших отдельное согласие на участие в этом компоненте фармакогеномического исследования, если будет необходимо (если разрешено местным законодательством). Участие в фармакогеномическом исследовании является необязательным. Образцы дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК) будут проанализированы для выявления генетических факторов, которые могут быть связаны с клиническим ответом.

ОЦЕНКИ ФАРМАКОДИНАМИКИ И УРОВНЯ БИОМАРКЕРОВ

5 [0223] Воспалительные ФД маркеры (СРБ и фекальный кальпротектин) будут оцениваться с использованием образцов крови и кала. Будут проведены оценки уровня биомаркеров для изучения биологического ответа на лечение и идентификации биомаркеров, которые относятся к лечению гуселькумабом и/или болезни Крона. Оценки будут включать в себя оценку соответствующих биомаркеров в сыворотке, цельной крови и биоптатов подвздошной и толстой кишки, если это разрешено местным законодательством.

10

ОЦЕНКИ ИММУНОГЕННОСТИ

15 [0224] Будет проведен скрининг образцов сыворотки на наличие антител, связывающихся с гуселькумабом, и будет зафиксирован титр в подтвержденных положительных образцах. Могут быть выполнены и другие анализы для проверки стабильности антител к гуселькумабу и/или дополнительного определения иммуногенности гуселькумаба.

ОЦЕНКИ БЕЗОПАСНОСТИ

20 [0225] Оценка безопасности включает в себя нежелательные явления (НЯ), клинические лабораторные тесты, показатели жизненно важных функций и физические обследования, скрининговую электрокардиограмму, оценку суицидального поведения, анализ сопутствующего лечения, реакции в месте инъекции, мониторинг реакций гиперчувствительности, оценку на туберкулез и другие оценки инфекций.

25

СТАТИСТИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ

Определение размера выборки

30 [0226] Размеры выборки определялись способностью обнаружить значительную разницу в клинической ремиссии на неделе 12 и в эндоскопическом ответе на неделе 12 (совместные первичные конечные точки) между комбинированной группой гуселькумаба и группой плацебо с

использованием двустороннего критерия хи-квадрат с уровнем значимости 0,05. Предполагаемые показатели составляют 50% по сравнению с 15% (гуселькумаб по сравнению с плацебо) для клинической ремиссии и 30% по сравнению с 13% для эндоскопического ответа. Исследование рассчитано таким образом, что терапия гуселькумабом достигает > 90% статистической мощности по совместным первичным конечным точкам по сравнению с плацебо. Этот размер выборки также обеспечивает > 90% статистической мощности для всех вторичных конечных точек.

10 Анализ эффективности

[0227] Для получения сводной информации по непрерывным переменным будут использовать описательную статистику (например, среднее, медиана, стандартное отклонение, межквартильный диапазон, минимум и максимум). Для получения сводной информации по категориальным переменным будут использовать подсчеты и процентные доли. Отображения графических данных (например, линейные графики) также могут быть использованы для обобщения данных.

[0228] Анализы, подходящие для категориальных данных (например, критерии хи-квадрат, критерии хи-квадрат Кокрана-Мантела-Хэнзеля (СМН) или логистическая регрессия, в зависимости от обстоятельств), будут использованы для сравнения долей участников, достигших выбранных конечных показателей (например, клинического ответа). В редких случаях для сравнения лечения будут использовать точный критерий Фишера. Параметры непрерывного ответа будут сравнивать с использованием дисперсионного анализа (ANOVA) или ковариационного анализа (ANCOVA), если не указано иное. Если предположение о нормальности распределения вызывает сомнение, будет использоваться ANOVA или ANCOVA для критерия нормальных меток ван дер Вардена.

[0229] Совместные первичные конечные точки (клиническая ремиссия на неделе 12 и эндоскопический ответ на неделе 12) будут проанализированы на основе первичных оценок и с учетом групп лечения, популяции, переменных, стратегий интеркуррентных событий (ICE) и сводных данных на уровне популяции. После учета стратегий ICE участники, чей статус ответившего на

лечение отсутствует для совместной первичной конечной точки, будут считаться не ответившими на лечение для этой совместной первичной конечной точки.

[0230] Статистические исследования будут выполнены на уровне значимости 0,05 (2-сторонний). Ошибка типа I будет контролироваться через совместную первичную и вторичную конечные точки. Что касается совместных первичных конечных точек, сначала будет проверена клиническая ремиссия на неделе 12, а затем эндоскопический ответ на неделе 12. Три вторичных анализа, перечисленные ниже, будут выполняться последовательно в зависимости от успеха обоих совместных первичных анализов конечных точек.

- 10 Клиническая ремиссия (оценка CDAI <150) на неделе 24
- Ремиссия PRO-2, достигнутая на неделе 12 (определяется как среднесуточная частота БЖ на уровне или ниже 1, и среднесуточный частота стула (ЧС) на уровне или ниже 3, т. е. $БЖ \leq 1$ и $ЧС \leq 3$, и отсутствие ухудшения БЖ или ЧС относительно исходного уровня)
- 15 Клинический ответ (снижение относительно исходного уровня CDAI ≥ 100 баллов или клиническая ремиссия) на неделе 12

[0231] Для конечных точек, которые не контролируются по множественности, будут представлены номинальные р-значения.

20 Анализ безопасности

[0232] Сводные данные по безопасности, включая, без ограничений, НЯ, серьезные нежелательные явления (СНЯ), инфекции, реакции в месте инъекции, изменения лабораторных показателей (гематологические и химические), а также суицидальные мысли и поведение. В анализ будут включены все сообщенные
25 НЯ, возникшие во время лечения.

Прочие виды анализов

Фармакокинетические анализы

- 30 **[0233]** Концентрация гуселькумаба в сыворотке с течением времени будет суммировано обобщена для каждой группы лечения с использованием описательной статистики. При необходимости можно создать популяционную

ФК модель. Если такие анализы популяционной ФК были проведены, то результаты этих анализов будут представлены в отдельном отчете.

Фармакокинетический/фармакодинамический анализы

5 [0234] Взаимосвязь между концентрациями гуселькумаба в сыворотке крови и показателями эффективности будет проанализирована с помощью графических инструментов. Если это возможно, можно разработать подходящую модель
10 воздействия-ответа для описания взаимосвязи между воздействием гуселькумаба в сыворотке и эффективностью. Результаты ФК/ФД анализа популяции будут представлены в отдельном техническом отчете.

Фармакогеномические анализы

[0235] Генетические (ДНК) анализы будут проводиться только у участников, подписавших форму согласия для участия в фармакогеномическом
15 подисследовании. Эти анализы считаются поисковыми, и их результаты будут обобщены в отдельном техническом отчете.

Анализы биомаркеров

[0236] Получаемые с течением времени данные по изменениям в
20 анализируемых белках сыворотки крови и рибонуклеиновой кислоте (РНК) цельной крови будут обобщены по группам приема препарата, если это разрешено местными нормативными актами. Будут изучены взаимосвязи между исходными и изменившимися уровнями отдельных биомаркеров и ответов на
лечение. Анализы РНК будут обобщены в отдельном техническом отчете.

25

Анализы иммуногенности

[0237] Данные по частоте появления и титрам антител к гуселькумабу будут обобщены для всех участников, которые получают дозу гуселькумаба и в чьих образцах найдены антитела к гуселькумабу (т. е. участников, у которых по
30 меньшей мере 1 образец был получен после введения первой дозы гуселькумаба). Частота появления нейтрализующих антител к гуселькумабу будет обобщенно представлена для участников, у которых обнаружены антитела к гуселькумабу и у которых есть образцы, подлежащие оценке на наличие нейтрализующих антител к гуселькумабу.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ лечения болезни Крона у пациента, включающий введение пациенту начальной подкожной дозы 400 мг специфического антитела к ИЛ-23, 5 подкожной дозы 400 мг примерно через 4 недели после начальной дозы и подкожной дозы 400 мг примерно через 8 недель после начальной дозы.

2. Способ по п. 1, дополнительно включающий введение дозы 100 мг или 200 мг антитела примерно каждые 4 недели или примерно каждые 8 недель после введения дозы примерно через 8 недель после начальной дозы.

10 3. Способ по п. 2, дополнительно включающий введение дозы 200 мг антитела примерно каждые 4 недели после введения дозы примерно через 8 недель после начальной дозы.

4. Способ по п. 2, дополнительно включающий введение дозы 100 мг антитела примерно каждые 8 недель после введения дозы примерно через 8 15 недель после начальной дозы.

5. Способ по п. 1, в котором пациент отвечает на антитело и идентифицирован как соответствующий клинической конечной точке примерно через 12 недель после начальной дозы, причем клиническая конечная точка представляет собой клиническую ремиссию на неделе 12, определяемую как 20 CDAI менее ($<$) 150 баллов или ответ, определенный по данным эндоскопии и измеренный по меньшей мере 50%-ным улучшением по сравнению с исходным уровнем по простой эндоскопической оценке болезни Крона (SES-CD).

6. Способ по п. 1, в котором пациент идентифицирован как соответствующий клинической конечной точке, причем клиническая конечная 25 точка выбрана из группы, состоящей из следующего: (i) клинической ремиссии, определяемой как CDAI менее ($<$) 150 баллов, измеренной примерно через 24 недели после начальной дозы; (ii) ремиссии на основе сообщаемого пациентом результата (PRO)-2, определенной на основе среднесуточной частоты стула (ЧС) ≤ 3 и среднесуточной оценки боли в области живота (БЖ) ≤ 1 , и отсутствия 30 ухудшения БЖ или ЧС относительно исходного уровня, измеренного примерно через 12 недель после начальной дозы; и (iii) клинического ответа, определяемого как снижение показателя CDAI на 100 или более (\geq) баллов относительно исходного уровня, измеренного примерно через 12 недель после начальной дозы.

7. Способ по п. 1, в котором антитело содержит переменную область легкой цепи и переменную область тяжелой цепи, причем указанная переменная область легкой цепи содержит:

аминокислотную последовательность определяющей комплементарности области легкой цепи 1 (CDRL1) SEQ ID NO: 4;

Аминокислотную последовательность CDRL2 SEQ ID NO: 5; и

аминокислотную последовательность CDRL3 SEQ ID NO: 6,

причем указанная переменная область тяжелой цепи содержит:

аминокислотную последовательность определяющей комплементарности области тяжелой цепи 1 (CDRH1) SEQ ID NO: 1;

Аминокислотную последовательность CDRH2 SEQ ID NO: 2; и

аминокислотную последовательность CDRH3 SEQ ID NO: 3, и причем считается, что пациент ответил на лечение антителом.

8. Способ по п. 7, в котором пациент продемонстрировал ответ на лечение антителом и его состояние соответствует клинической конечной точке, показанной ниже:

(xii) изменение индекса активности болезни Крона (CAI) относительно исходного уровня;

(xiii) клиническая ремиссия, определяемая как CAI менее (\leq) 150 баллов;

(xiv) клинический ответ, определяемый как снижение показателя CAI на 100 или более (\geq) баллов относительно исходного уровня или $CAI < 150$;

(xv) ремиссия по сообщаемому пациентом результату (PRO)-2, определенная на основе среднесуточной частоты стула (ЧС) и среднесуточной оценки боли в области живота (БЖ);

(xvi) ответ по клиническим показателям и биомаркерам, определенный по клиническому ответу на основе оценки CAI и снижения относительно исходного уровня С-реактивного белка (CRP) или фекального кальпротектина;

(xvii) эндоскопический ответ на основе простого эндоскопического индекса активности болезни Крона (SES-CD);

(xviii) эндоскопическая ремиссия на основе простого эндоскопического индекса активности болезни Крона (SES-CD);

(xix) Стойкая клиническая ремиссия на неделе 48, определяемая как показатель CDAI < 150 при большинстве из всех визитов в период с недели 12 и до недели 48;

5 (xx) клиническая ремиссия без кортикостероидов на неделе 48, определяемая как CDAI < 150 на неделе 48, и отсутствие приема кортикостероидов на неделе 48.

(xxi) реакция усталости, определяемая на основе информационной системы для оценки результатов, сообщаемых пациентом (PROMIS); и

10 (xxii) эндоскопический ответ на основе простого эндоскопического индекса активности болезни Крона (SES-CD).

9. Способ по п. 8, в котором клинический (-ие) конечный (-ые) показатель (-и) измеряют через 4, 8, 12, 16, 20, 28, 32, 36, 40, 44 и/или 48 недель после первоначальной дозы.

15 10. Способ по п. 7, в котором антитело находится в композиции, содержащей 7,9% (масс./об.) сахарозы, 4,0 мМ гистидина, 6,9 мМ моногидрата моногидрохлорида L-гистидина; 0,053% (масс./об.) полисорбата 80 в фармацевтической композиции; причем разбавитель представляет собой воду в стандартном состоянии.

20 11. Способ по п. 1, дополнительно включающий введение пациенту одного или более дополнительных лекарственных средств, применяемых для лечения болезни Крона.

25 12. Способ по п. 11, в котором дополнительное лекарственное средство выбрано из группы, состоящей из: иммуносупрессорных агентов, нестероидных противовоспалительных средств (НПВС), метотрексата (MTX), антител к поверхностному маркеру В-клеток, антител к CD20, ритуксимаба, ингибиторов ФНО, кортикостероидов и костимулирующих модификаторов.

30 13. Способ по п. 1, в котором антитело содержит аминокислотную последовательность вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 8 и аминокислотную последовательность вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 7.

14. Способ по п. 1, в котором антитело содержит аминокислотную последовательность легкой цепи SEQ ID NO: 10 и аминокислотную последовательность тяжелой цепи SEQ ID NO: 9.

15. Способ по п. 1, в котором пациент показывает неэффективность или непереносимость биологической терапии (Bio-Failure) болезни Крона.

16. Способ по п. 1, в котором пациент показывает неэффективность или непереносимость традиционной терапии (Con-Failure) болезни Крона.

5 17. Способ по п. 1, в котором болезнь Крона представляет собой болезнь Крона от умеренной до тяжелой степени активности.

18. Способ по п. 17, в котором у пациента имеются эндоскопические признаки активной болезни Крона до введения начальной дозы.

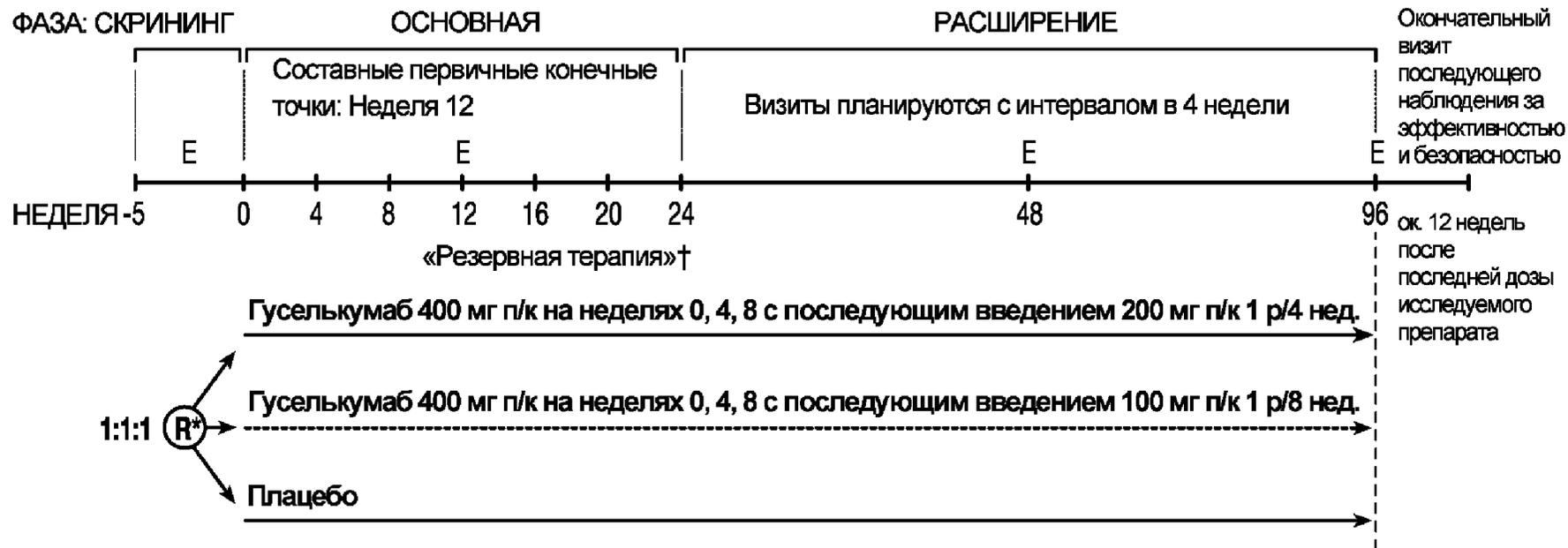
10 19. Способ по п. 17, в котором пациент имеет болезнь Крона от умеренной до тяжелой степени активности в течение по меньшей мере трех месяцев до введения начальной дозы.

20. Способ лечения болезни Крона от умеренной до тяжелой степени активности у пациента, включающий (i) введение пациенту начальной подкожной дозы 400 мг специфичного к ИЛ-23 антитела, подкожной дозы 400 мг примерно 4 недели после начальной дозы и подкожной дозы 400 мг примерно через 8 недель после начальной дозы, и (ii) дополнительное введение дозы 200 мг антитела примерно каждые 4 недели после введения дозы примерно через 8 недель после начальной дозы или дозы 100 мг антитела примерно каждые 8 недель после введения дозы примерно через 8 недель после начальной дозы, причем антитело содержит аминокислотную последовательность вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 8 и аминокислотную последовательность вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 7, и пациент отвечает на антитело и идентифицирован как соответствующий клинической конечной точке примерно через 12 недель после начальной дозы, причем клиническая конечная точка представляет собой клиническую ремиссию на неделе 12, определяемую как CDAI менее ($<$) 150 баллов или ответ, определенный по данным эндоскопии и измеренный по меньшей мере 50%-ным улучшением по сравнению с исходным уровнем по простой эндоскопической оценке болезни Крона (SES-CD).

15

20

25



(R) = Рандомизация E = Эндоскопия

* Стратифицировано по исходному уровню CDAI, SES-CD и предыдущему состоянию BIO-Failure

† Начало «резервной терапии» на неделе 16 после соответствия критериям такой терапии

ФИГ. 1



(R) = Рандомизация ▲ = Гуселькумаб 200 мг/2 мл PFS-Y ▼ = «Резервная терапия» гуселькумабом ● = Гуселькумаб 100 мг/1 мл
 E = Эндоскопия △ = Плацебо 2 мл PFS-Y 200 мг/2 мл PFS-Y ○ = Плацебо 1 мл PFS-U
 ▽ = Имитация «резервной терапии» с

* Стратифицировано по исходному уровню CDAI, SES-CD и предыдущему состоянию BIO-Failure

ФИГ. 2