



(19) RU (11) 2 763 787⁽¹³⁾ C2

(51) МПК
A61K 38/00 (2006.01)
A61K 9/00 (2006.01)
A61K 9/08 (2006.01)
A61K 39/395 (2006.01)
A61K 47/18 (2006.01)
A61K 47/26 (2006.01)

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(52) СПК

A61K 38/00 (2021.08); *A61K 9/00* (2021.08); *A61K 9/08* (2021.08); *A61K 39/00* (2021.08); *A61K 39/395* (2021.08); *A61K 47/18* (2021.08); *A61K 47/26* (2021.08)

(21)(22) Заявка: 2016119755, 23.10.2014

(24) Дата начала отсчета срока действия патента: 23.10.2014

Дата регистрации:
11.01.2022

Приоритет(ы):

(30) Конвенционный приоритет:
24.10.2013 US 61/895,143

(43) Дата публикации заявки: 27.11.2017 Бюл. № 33

(45) Опубликовано: 11.01.2022 Бюл. № 2

(85) Дата начала рассмотрения заявки РСТ на национальной фазе: 24.05.2016

(86) Заявка РСТ:
US 2014/061997 (23.10.2014)

(87) Публикация заявки РСТ:
WO 2015/061584 (30.04.2015)

Адрес для переписки:
129090, Москва, ул. Б.Спасская, 25, строение 3,
ООО "Юридическая фирма Городисский и
Партнеры"

(72) Автор(ы):

ЛИЧ Уилльям (US),
 ЛЬЮУС Рейчел (US),
 МАКДЖИВНИ Джеймс (US),
 НЬЮЭЛЛ Келси (US),
 СТЮАРТ Кевин Дуглас (US)

(73) Патентообладатель(и):

АСТРАЗЕНЕКА АБ (SE)

(56) Список документов, цитированных в отчете о поиске: ЕА 28227 B1, 31.10.2017. WO 2010102241 A1, 10.09.2010. RU 2580012 C2, 10.04.2016. RU 2314130 C2, 10.01.2008. RU 2384369 C1, 20.03.2010.

(54) СТАБИЛЬНЫЕ ВОДНЫЕ СОСТАВЫ НА ОСНОВЕ АНТИТЕЛ

(57) Реферат:

Изобретение относится к области биотехнологии. Описана группа изобретений, включающая стабильный водный состав на основе антитела, набор, отличающийся тем, что представляет собой герметичный контейнер, содержащий состав на основе антитела, лекарственную форму, подходящую для парентерального введения человеку, предварительно заполненный шприц, способ получения стабильного водного состава на основе антитела, способ лечения легочного

заболевания или нарушения у пациента. В одном из вариантов реализации стабильный водный состав на основе антитела содержит от приблизительно 2 мг/мл до приблизительно 100 мг/мл антитела, где антитело содержит вариабельную область тяжелой цепи, содержащей CDR1, CDR2 и CDR3 с SEQ ID NO: 5-7 и вариабельную область легкой цепи, содержащей CDR1, CDR2 и CDR3 с SEQ ID NO: 8-10 и полисорбат-20. Изобретение расширяет арсенал стабильных составов антител. 6 н. и 13 з.п. ф-лы,

RU 2763787 C2

22 ил., 7 табл., 8 пр.

Р У 2 7 6 3 7 8 7 С 2

Р У 2 7 6 3 7 8 7 С 2

RUSSIAN FEDERATION

FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY(19) RU (11) 2 763 787⁽¹³⁾ C2

(51) Int. Cl.
A61K 38/00 (2006.01)
A61K 9/00 (2006.01)
A61K 9/08 (2006.01)
A61K 39/395 (2006.01)
A61K 47/18 (2006.01)
A61K 47/26 (2006.01)

(12) ABSTRACT OF INVENTION

(52) CPC

A61K 38/00 (2021.08); *A61K 9/00* (2021.08); *A61K 9/08* (2021.08); *A61K 39/00* (2021.08); *A61K 39/395* (2021.08); *A61K 47/18* (2021.08); *A61K 47/26* (2021.08)

(21)(22) Application: 2016119755, 23.10.2014

(24) Effective date for property rights:
23.10.2014Registration date:
11.01.2022

Priority:

(30) Convention priority:
24.10.2013 US 61/895,143

(43) Application published: 27.11.2017 Bull. № 33

(45) Date of publication: 11.01.2022 Bull. № 2

(85) Commencement of national phase: 24.05.2016

(86) PCT application:
US 2014/061997 (23.10.2014)(87) PCT publication:
WO 2015/061584 (30.04.2015)Mail address:
129090, Moskva, ul. B.Spasskaya, 25, stroenie 3,
OOO "Yuridicheskaya firma Gorodisskij i
Partnery"

(72) Inventor(s):

LICH Uillyam (US),
LYUUS Rejchel (US),
MAKDZHIVNI Dzhejms (US),
NYUELL Kelsi (US),
STYUART Kevin Duglas (US)

(73) Proprietor(s):

ASTRAZENEKA AB (SE)

RU 2763787 C2

(54) STABLE AQUEOUS COMPOSITIONS BASED ON ANTIBODIES

(57) Abstract:

FIELD: biotechnology.

SUBSTANCE: group of inventions is described including a stable aqueous composition based on an antibody, a set that differ in that it is a sealed container comprising a composition based on an antibody, a dosage form suitable for parenteral injection to a human, a pre-filled syringe, a method for preparing a stable aqueous composition based on an antibody, a method for the treatment of a lung disease or disorder in a patient. In one embodiment, a stable aqueous

composition based on an antibody contains from approximately 2 mg/ml to approximately 100 mg/ml of an antibody, where the antibody contains a variable region of a heavy chain containing CDR1, CDR2 and CDR3 with SEQ ID NO: 5-7, and a variable region of a light chain containing CDR1, CDR2 and CDR3 with SEQ ID NO: 8-10 and polysorbate-20.

EFFECT: invention expands the arsenal of stable antibody compositions.

19 cl, 22 dwg, 7 tbl, 8 ex

Область изобретения

[0001] Настоящее изобретение относится к стабильным водным составам на основе антител. В некоторых вариантах осуществления стабильные водные составы содержат от приблизительно 2 мг/мл до приблизительно 100 мг/мл антитела, где антитело 5 содержит вариабельную область тяжелой цепи и вариабельную область легкой цепи, где вариабельная область тяжелой цепи содержит определенные по Kabat последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 с SEQ ID NO: 5-7, и где вариабельная область легкой цепи содержит определенные по Kabat последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 с SEQ ID NO: 8-10, и от приблизительно 0,002% до приблизительно 0,01% полисорбата-10. Так же предусматриваются способы получения и способы применения таких составов на основе антител.

ПРЕДПОСЫЛКИ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[0002] Антитела применяли в лечении различных заболеваний и состояний вследствие их специфичности распознавания мишени, получая, таким образом, 15 высокоизбирательные результаты после системного введения. Для того чтобы сохранить эффективность антител, нужно поддерживать их биологическую активность в ходе их получения, очистки, транспортировки и хранения. Новые методики получения и очистки были разработаны для обеспечения возможности получения больших количеств моноклональных антител высокой степени очистки. Тем не менее, все еще существуют 20 трудности со стабилизацией этих антител с целью транспортировки и хранения, и даже еще больше трудностей существует с получением антител в лекарственной форме, подходящей для введения.

[0003] Значительными препятствиями при составлении и хранении антител могут 25 быть денатурация, агрегация, загрязнение и образование частиц. Вследствие широкого разнообразия антител не существует универсальных составов или условий, подходящих для хранения всех видов антител. Оптимальные составы и условия, подходящие для хранения одного антитела, часто специфичны для этого антитела. Следовательно, составы и способы для хранения антител часто представляют собой значительную часть процесса исследования и разработки коммерческих антител.

[0004] Для преодоления трудностей, связанных со стабильностью антител, были 30 предложены различные способы. Например, в некоторых случаях, антитело часто лиофилизируют, а затем восстанавливают непосредственно перед введением. Однако, восстановление обычно не является наиболее подходящим, поскольку оно привносит дополнительную стадию в способ введения и может обуславливать включение 35 загрязняющих веществ в состав. Кроме того, даже восстановленные антитела могут подвергаться агрегации и образованию частиц. Следовательно, существует потребность в получении стабильных водных составов на основе антител, с которыми можно преодолеть трудности, связанные с транспортировкой и хранением.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[0005] Настоящее изобретение относится к стабильному водному составу на основе антител, содержащему: (а) от приблизительно 2 мг/мл до приблизительно 100 мг/мл антитела, где антитело содержит вариабельную область тяжелой цепи и вариабельную область легкой цепи, где вариабельная область тяжелой цепи содержит определенные по Kabat последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 с SEQ ID NO: 5-7, и где вариабельная 45 область легкой цепи содержит определенные по Kabat последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 с SEQ ID NO: 8-10, и (б) от приблизительно 0,002% до приблизительно 0,01% полисорбата-20.

[0006] В некоторых вариантах осуществления состав на основе антител дополнительно

содержит незаряженное вспомогательное вещество. В некоторых вариантах осуществления незаряженное вспомогательное вещество представляет собой трегалозу. В некоторых вариантах осуществления концентрация незаряженного вспомогательного вещества составляет от приблизительно 20 мМ до приблизительно 80 мМ. В некоторых 5 вариантах осуществления концентрация незаряженного вспомогательного вещества составляет от приблизительно 200 мМ до приблизительно 400 мМ.

[0007] Антитело может присутствовать в различных концентрациях. В некоторых вариантах осуществления состав содержит от приблизительно 2 до приблизительно 20 мг/мл антитела. В некоторых вариантах осуществления состав содержит от 10 приблизительно 20 до приблизительно 100 мг/мл антитела. В одном варианте осуществления состав содержит 30 мг/мл антитела.

[0008] Состав может дополнительно содержать аргинин. В некоторых вариантах осуществления аргинин представляет собой L-аргинин. В некоторых вариантах осуществления состав содержит от приблизительно 100 мМ до приблизительно 200 мМ 15 L-аргинина. В некоторых вариантах осуществления состав содержит от приблизительно 120 мМ до приблизительно 140 мМ L-аргинина и от приблизительно 40 мМ до приблизительно 60 мМ незаряженного вспомогательного вещества. В одном варианте осуществления состав содержит приблизительно 125 мМ L-аргинина. В одном варианте осуществления состав содержит приблизительно 130 мМ L-аргинина.

20 [0009] В некоторых вариантах осуществления состав дополнительно содержит гистидин. В некоторых вариантах осуществления концентрация гистидина составляет от приблизительно 15 мМ до приблизительно 30 мМ. В одном варианте осуществления концентрация гистидина составляет приблизительно 20 мМ.

[0010] В некоторых вариантах осуществления антитело не подвергали лиофилизации.

25 [0011] В некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение относится к стабильному водному составу на основе антител, содержащему от приблизительно 2 мг/мл до приблизительно 100 мг/мл антитела, где антитело содержит вариабельную область тяжелой цепи и вариабельную область легкой цепи, где вариабельная область тяжелой цепи содержит определенные по Kabat последовательности CDR1, CDR2 и 30 CDR3 с SEQ ID NO: 5-7, и где вариабельная область легкой цепи содержит определенные по Kabat последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 с SEQ ID NO: 8-10, при этом указанный состав является стабильным при хранении при приблизительно 40°C в течение по меньшей мере 1 месяца. В некоторых вариантах осуществления состав является 35 стабильным при хранении при приблизительно 25°C в течение по меньшей мере 3 месяцев. В некоторых вариантах осуществления состав является стабильным при хранении при приблизительно 5°C в течение по меньшей мере 18 месяцев. В некоторых вариантах осуществления антитело, хранящееся при 40 приблизительно 40°C в течение по меньшей мере 1 месяца, сохраняет по меньшей мере 80% способности к связыванию с полипептидом IL-5R по сравнению с эталонным антителом, которое не подвергалось хранению. В некоторых вариантах осуществления антитело, хранящееся при 45 приблизительно 5°C в течение по меньшей мере 6 месяцев, сохраняет по меньшей мере 80% способности к связыванию с полипептидом IL-5R по сравнению с эталонным антителом, которое не подвергалось хранению. В некоторых вариантах осуществления антитело, хранящееся при приблизительно 40°C в течение по меньшей мере 1 месяца, сохраняет по меньшей мере 95% способности к связыванию с полипептидом IL-5R по сравнению с эталонным антителом, которое не подвергалось хранению. В некоторых вариантах осуществления антитело, хранящееся при приблизительно 5°C в течение по меньшей мере 6 месяцев, сохраняет по меньшей мере 95% способности к связыванию

с полипептидом IL-5R по сравнению с эталонным антителом, которое не подвергалось хранению. В некоторых вариантах осуществления менее 2% антител образуют агрегат при хранении при приблизительно 40°C в течение по меньшей мере 1 месяца, что определяют с помощью HPSEC. В некоторых вариантах осуществления менее 2% 5 антител образуют агрегат при хранении при приблизительно 5°C в течение по меньшей мере 12 месяцев, что определяют с помощью HPSEC.

[0012] В некоторых вариантах осуществления состав практически не содержит частиц при хранении при приблизительно 40°C в течение по меньшей мере 1 месяца, что определяют с помощью визуального контроля. В некоторых вариантах осуществления 10 состав практически не содержит частиц при хранении при приблизительно 5°C в течение по меньшей мере 12 месяцев, что определяют с помощью визуального контроля.

[0013] В некоторых вариантах осуществления состав представляет собой инъекционный состав. В некоторых вариантах осуществления состав подходит для внутривенного, подкожного или внутримышечного введения.

[0014] В некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение относится к герметичному контейнеру, содержащему состав на основе антител, описанный в данном документе. В некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение относится к фармацевтической стандартной лекарственной форме, подходящей для парентерального введения человеку, которая содержит состав на основе антител, 15 описанный в данном документе, в подходящем контейнере. В некоторых вариантах осуществления состав на основе антител вводят внутривенно, подкожно или внутримышечно. В некоторых вариантах осуществления подходящий контейнер представляет собой предварительно заполненный шприц. В некоторых вариантах осуществления предварительно заполненный шприц содержит иглу. В некоторых 20 вариантах осуществления игла представляет собой тонкостенную иглу 29G. В некоторых вариантах осуществления предварительно заполненный шприц представляет собой пластиковый шприц или стеклянный шприц. В некоторых вариантах осуществления предварительно заполненный шприц изготовлен из материалов, которые практически 25 не содержат вольфрам.

[0015] В некоторых вариантах осуществления предварительно заполненный шприц покрыт кремнийорганическим соединением. В некоторых вариантах осуществления предварительно заполненный шприц содержит поршень с диском из фторполимерной смолы. В некоторых вариантах осуществления предварительно заполненный шприц содержит (a) от приблизительно 2 мг/мл до приблизительно 20 мг/мл антитела, где 30

антитело содержит вариабельную область тяжелой цепи и вариабельную область легкой цепи, где вариабельная область тяжелой цепи содержит определенные по Kabat последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 с SEQ ID NO: 5-7, и где вариабельная область легкой цепи содержит определенные по Kabat последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 с SEQ ID NO: 8-10, и (b) от приблизительно 0,002% до приблизительно 0,01%

40 полисорбата-20. В некоторых вариантах осуществления предварительно заполненный шприц дополнительно содержит: (c) от приблизительно 40 мМ до приблизительно 60 мМ трегалозы и (d) от приблизительно 110 мМ до приблизительно 150 мМ L-аргинина. В некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение относится к

45 предварительно заполненному шприцу, содержащему: (a) от приблизительно 20 мг/мл до приблизительно 100 мг/мл антитела, где антитело содержит вариабельную область тяжелой цепи и вариабельную область легкой цепи, где вариабельная область тяжелой цепи содержит определенные по Kabat последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 с SEQ ID NO: 5-7, и где вариабельная область легкой цепи содержит определенные по Kabat

последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 с SEQ ID NO: 8-10, и (b) от приблизительно 0,002% до приблизительно 0,01% полисорбата-20. В некоторых вариантах осуществления состав дополнительно содержит: (c) от приблизительно 200 мМ до приблизительно 300 мМ трегалозы.

5 [0016] В некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение относится к набору, содержащему состав, описанный в данном документе, контейнер, описанный в данном документе, стандартные лекарственные формы, описанные в данном документе, или предварительно заполненные шприцы, описанные в данном документе.

10 [0017] В некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение относится к стабильному водному составу на основе антител, содержащему: (a) от приблизительно 2 мг/мл до приблизительно 20 мг/мл антитела, где антитело содержит вариабельную область тяжелой цепи и вариабельную область легкой цепи, где вариабельная область тяжелой цепи содержит определенные по Kabat последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 с SEQ ID NO: 5-7, и где вариабельная область легкой цепи содержит определенные

15 по Kabat последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 с SEQ ID NO: 8-10, (b) от приблизительно 0,002% до приблизительно 0,01% полисорбата-20, (c) от приблизительно 40 мМ до приблизительно 60 мМ трегалозы, (d) от приблизительно 110 мМ до приблизительно 150 мМ L-аргинина и (e) от приблизительно 15 до приблизительно 30 мМ гистидина. В одном варианте осуществления настоящее изобретение относится к

20 стабильному водному составу на основе антител, содержащему: (a) от приблизительно 2 мг/мл до приблизительно 20 мг/мл антитела, где антитело содержит вариабельную область тяжелой цепи и вариабельную область легкой цепи, где вариабельная область тяжелой цепи содержит определенные по Kabat последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 с SEQ ID NO: 5-7, и где вариабельная область легкой цепи содержит определенные

25 по Kabat последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 с SEQ ID NO: 8-10, (b) приблизительно 0,006% полисорбата-20, (c) приблизительно 50 мМ трегалозы, (d) приблизительно 130 мМ L-аргинина и (e) приблизительно 20 мМ гистидина.

30 [0018] В некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение относится к стабильному водному составу на основе антител, содержащему: (a) от приблизительно 20 мг/мл до приблизительно 100 мг/мл антитела, где антитело содержит вариабельную область тяжелой цепи и вариабельную область легкой цепи, где вариабельная область тяжелой цепи содержит определенные по Kabat последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 с SEQ ID NO: 5-7, и где вариабельная область легкой цепи содержит определенные по Kabat последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 с SEQ ID NO: 8-10, (b) от

35 приблизительно 0,002% до приблизительно 0,01% полисорбата-20, (c) от приблизительно 200 мМ до приблизительно 300 мМ трегалозы и (d) от приблизительно 15 до приблизительно 30 мМ гистидина. В одном варианте осуществления настоящее изобретение относится к стабильному водному составу на основе антител, содержащему:

40 (a) от приблизительно 20 мг/мл до приблизительно 100 мг/мл антитела, где антитело содержит вариабельную область тяжелой цепи и вариабельную область легкой цепи,

где вариабельная область тяжелой цепи содержит определенные по Kabat последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 с SEQ ID NO: 5-7, и где вариабельная область легкой цепи содержит определенные по Kabat последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 с SEQ ID NO: 8-10, (b) приблизительно 0,006% полисорбата-20, (c) приблизительно 250

45 мМ трегалозы и (d) приблизительно 20 мМ гистидина. В другом варианте осуществления настоящее изобретение относится к стабильному водному составу на основе антител, содержащему: (a) приблизительно 30 мг/мл антитела, где антитело содержит вариабельную область тяжелой цепи и вариабельную область легкой цепи, где

вариабельная область тяжелой цепи содержит определенные по Kabat последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 с SEQ ID NO: 5-7, и где вариабельная область легкой цепи содержит определенные по Kabat последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 с SEQ ID NO: 8-10, (b) приблизительно 0,006% полисорбата-20, (c) приблизительно 250 мМ трегалозы и (d) приблизительно 20 мМ гистидина.

[0019] В некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение относится к способу получения стабильного водного состава на основе антител, при этом способ включает: (a) очистку антитела до от приблизительно 1 мг/мл до приблизительно 400 мг/мл, где антитело содержит вариабельную область тяжелой цепи и вариабельную

область легкой цепи, где вариабельная область тяжелой цепи содержит определенные по Kabat последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 с SEQ ID NO: 5-7, и где вариабельная область легкой цепи содержит определенные по Kabat последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 с SEQ ID NO: 8-10; (b) помещение выделенного антитела в стабилизирующий состав с получением стабильного водного состава на основе антител, где полученный стабильный водный состав на основе антител содержит: (i) от приблизительно 2 мг/мл до приблизительно 100 мг/мл антитела и (ii) от приблизительно 0,002% до приблизительно 0,01% полисорбата-20.

[0020] В некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение относится к способу получения стабильного водного состава на основе антител, при этом способ включает: (a) очистку антитела до от приблизительно 1 мг/мл до приблизительно 400 мг/мл, где антитело содержит вариабельную область тяжелой цепи и вариабельную область легкой цепи, где вариабельная область тяжелой цепи содержит определенные по Kabat последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 с SEQ ID NO: 5-7, и где вариабельная область легкой цепи содержит определенные по Kabat последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 с SEQ ID NO: 8-10; (b) разведение антитела до от приблизительно 2 мг/мл до приблизительно 20 мг/мл антитела в растворе, содержащем: (i) от приблизительно 0,002% до приблизительно 0,01% полисорбата-20, (ii) от приблизительно 40 мМ до приблизительно 60 мМ трегалозы и (iii) от приблизительно 110 мМ до приблизительно 150 мМ L-аргинина.

[0021] В некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение относится к способу получения стабильного водного состава на основе антител, при этом способ включает: (a) очистку антитела до от приблизительно 1 мг/мл до приблизительно 400 мг/мл, где антитело содержит вариабельную область тяжелой цепи и вариабельную область легкой цепи, где вариабельная область тяжелой цепи содержит определенные по Kabat последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 с SEQ ID NO: 5-7, и где вариабельная область легкой цепи содержит определенные по Kabat последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 с SEQ ID NO: 8-10; (b) разведение антитела до от приблизительно 20 мг/мл до приблизительно 100 мг/мл антитела в растворе, содержащем: (i) от приблизительно 0,002% до приблизительно 0,01% полисорбата-20 и (ii) от приблизительно 200 мМ до приблизительно 300 мМ трегалозы.

[0022] В некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение относится к способу получения восстановленного состава на основе антител, содержащего антитело, где антитело содержит вариабельную область тяжелой цепи и вариабельную область легкой цепи, где вариабельная область тяжелой цепи содержит определенные по Kabat последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 с SEQ ID NO: 5-7, и где вариабельная область легкой цепи содержит определенные по Kabat последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 с SEQ ID NO: 8-10, при этом способ включает: (a) очистку антитела из культуры клеток; (b) лиофилизацию выделенного антитела; (c) добавление лиофилизированного антитела

к водному раствору с получением восстановленного состава на основе антител, где восстановленный состав на основе антител содержит: (i) от приблизительно 2 мг/мл до приблизительно 100 мг/мл антитела и (ii) от приблизительно 0,002% до приблизительно 0,01% полисорбата-20.

- 5 [0023] В некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение относится к составу на основе антител, содержащему антитело, где антитело содержит вариабельную область тяжелой цепи и вариабельную область легкой цепи, где вариабельная область тяжелой цепи содержит определенные по Kabat последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 с SEQ ID NO: 5-7, и где вариабельная область легкой цепи содержит определенные по Kabat
- 10 по Kabat последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 с SEQ ID NO: 8-10, при этом состав на основе антител фактически не содержит частиц. В некоторых вариантах осуществления состав на основе антител содержит антитело, где антитело содержит вариабельную область тяжелой цепи и вариабельную область легкой цепи, где вариабельная область тяжелой цепи содержит определенные по Kabat
- 15 последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 с SEQ ID NO: 5-7, и где вариабельная область легкой цепи содержит определенные по Kabat последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 с SEQ ID NO: 8-10, при этом состав на основе антител фактически не содержит активную глутатион-S-трансферазу (GST). В некоторых вариантах осуществления состав на основе антител фактически не содержит GST. В некоторых вариантах осуществления
- 20 состав на основе антител фактически не содержит частиц в течение по меньшей мере 1 месяца при хранении при 38-42°C. В некоторых вариантах осуществления состав на основе антител фактически не содержит частиц в течение по меньшей мере 6 месяцев при хранении при 2-6°C. В некоторых вариантах осуществления состав на основе антител фактически не содержит частиц в течение по меньшей мере 18 месяцев при хранении
- 25 при 2-6°C.

- [0024] В некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение относится к способу очистки антитела, где антитело содержит вариабельную область тяжелой цепи и вариабельную область легкой цепи, где вариабельная область тяжелой цепи содержит определенные по Kabat последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 с SEQ ID NO: 5-7, и где вариабельная область легкой цепи содержит определенные по Kabat
- 30 последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 с SEQ ID NO: 8-10, при этом способ включает: (a) получение культуры клеток, содержащей антитело, (b) проведение аффинной хроматографии антитела, (c) проведение катионного обмена с антителом, (d) проведение
- 35 хроматографии антитела в смешанном режиме. В некоторых вариантах осуществления способ дополнительно включает способ инактивации вирусов и/или способ диафильтрации.

- [0025] В некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение относится к способу лечения легочного заболевания или нарушения у субъекта, при этом способ
- 40 включает введение терапевтически эффективного количества описанных в данном документе составов на основе антител, описанных в данном документе контейнеров, описанных в данном документе стандартных лекарственных форм или описанных в данном документе предварительно заполненных шприцев. В некоторых вариантах осуществления легочное заболевание или нарушение представляет собой эозинофильное
- 45 заболевание или нарушение. В некоторых вариантах осуществления легочное заболевание или нарушение представляет собой астму, COPD, эозинофильную астму, смешанную эозинофильно-нейтрофильную астму, аспириновую астму, аллергический бронхолегочный аспергиллез, острый и хронический эозинофильный бронхит, острую

и хроническую эозинофильную пневмонию, синдром Черджа-Страсса, гиперэозинофильный синдром, легочную эозинофилию, вызванную лекарственными средствами, раздражающими средствами и облучением, легочную эозинофилию, вызванную инфекцией (грибковой, туберкулезной, паразитарной), легочную 5 эозинофилию, ассоциированную с аутоиммунным заболеванием, эозинофильный эзофагит, болезнь Крона или их комбинацию. В некоторых вариантах осуществления легочное заболевание или нарушение представляет собой астму. В некоторых вариантах осуществления легочное заболевание или нарушение представляет собой хроническое обструктивное заболевание легких (COPD).

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ФИГУР

[0026] Фиг. 1. Аминокислотные последовательности антитела к IL5R.

[0027] На фиг. 2 представлен эффект полисорбата-20 в отношении доли мономеров в растворе. Для полноценного поддержания уровня мономеров необходима концентрация полисорбата выше 0,005%.

[0028] На фиг. 3 представлен эффект полисорбата-20 в отношении количества невидимых невооруженным глазом частиц в растворах при 2 г/л. Для частиц > 2 мкм данные не показаны, но они характеризуются картиной, сходной с таковой для более крупных частиц. Данные указывают на то, что уровни невидимых невооруженным глазом частиц в растворах при 2 г/л не контролируются каким-либо уровнем 15 полисорбата.

[0029] На фиг. 4 представлен эффект полисорбата-20 в отношении количества невидимых невооруженным глазом частиц в растворах при 100 г/л. Для частиц > 2 мкм данные не показаны, но они характеризуются картиной, сходной с таковой для более крупных частиц. Данные указывают на то, что уровни полисорбата выше 0,003% 25 контролируют уровни невидимых невооруженным глазом частиц в растворах при 100 г/л.

[0030] Фиг. 5. Результаты HPLC для мономеров (%) и других форм (%) в зависимости от pH раствора и концентрации белка. Потеря мономеров сведена к минимуму в диапазоне pH 5,5-6,5.

[0031] Фиг. 6. Образование частиц, в том числе невидимых невооруженным глазом частиц > 10-мкм, измеренное с помощью MFI, и видимых частиц, оцененное путем сравнения со стандартами, в зависимости от pH раствора и концентрации белка. Значения количества невидимых невооруженным глазом частиц зависят от концентрации белка, но не демонстрируют четкую тенденцию в отношении pH. Больше видимых частиц 35 наблюдается в растворах с более низкой концентрацией белка в диапазоне pH 5,5-6,5.

[0032] Фиг. 7. Значения количества невидимых невооруженным глазом частиц > 10 мкм, фильтрация по характеристическому отношению для исключения капель кремнийорганического масла. Сравниваются данные о значениях количества SVP сразу после перевозки с таковыми после 1 месяца хранения при 25°C. Высокие количества 40 наблюдаются при более низких концентрациях белка независимо от PS-20.

[0033] Фиг. 8. Значения количества частиц > 10 мкм, определенные с помощью MFI после моделируемой транспортировки, для различных концентраций белка и составов. Составы с более высокой ионной силой являются более стабильными, равно как и составы с трегалозой \geq 10 г/л.

[0034] Фиг. 9. Значения количества частиц > 10 мкм, определенные с помощью MFI после моделируемой транспортировки, для составов с концентрацией белка 2 г/л и варьирующей концентрацией вспомогательных веществ. Концентрация аргинина должна быть > 50 мМ, и концентрация NaCl должна быть > 75 мМ.

[0035] Фиг. 10. Значения количества частиц > 10 мкм, определенные с помощью MFI после моделируемой транспортировки, для составов с концентрацией белка 2 г/л и варьирующей концентрацией вспомогательных веществ. Любая концентрация вспомогательного вещества в этом диапазоне является приемлемой.

5 [0036] Фиг. 11. Значения количества частиц > 10 мкм, определенные с помощью MFI после моделируемой транспортировки, для составов с концентрацией белка 2 г/л и варьирующей концентрацией вспомогательных веществ.

10 [0037] Фиг. 12. Показана потеря мономеров для составов при 2 мг/мл, 20 мг/мл и 100 мг/мл во флаконах и предварительно заполненных шприцах. Все составы в PFS демонстрируют сходную потерю относительно составов во флаконах и друг друга.

15 [0038] Фиг. 13. Показано графическое представление стратегии крайних вариантов. Синий обозначает составы, содержащие аргинин или NaCl. Зеленый обозначает составы с трегалозой. Экспериментальные точки представляют собой подготовленные образцы, а линии означают промежуточные варианты выбора, доступные для достижения промежуточных доз.

20 [0039] Фиг. 14. Программа проведения испытаний для исследования стабильности № 2. Все отмеченные исследования будут проводиться с составом на основе антител. Желтая штриховка указывает, что исследование будет проводиться с плацебо. Обозначение "ABC" указывает на представление следующих исследований: активность (БИОЛОГИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ), RP-HPLC, cIEF, использование биоанализатора в невосстановливающих условиях и использование биоанализатора в восстановливающих условиях.

25 [0040] Фиг. 15 представляет собой график, демонстрирующий образцы, полученные для определения пространства проектных параметров для обоих интервалов значений для состава в зависимости от концентраций белка и полисорбата-20 ("PS-20").

30 [0041] Фиг. 16 представляет собой график, демонстрирующий невидимые невооруженным глазом частицы, определенные с помощью MFI в 0 момент времени после перевозки. Результаты демонстрируют, что частицы образуются при отсутствии PS-20, но 0,002% PS-20 является достаточным для ингибирования образования частиц при перевозке.

35 [0042] Фиг. 17 (A-D). Наблюдения видимых частиц оценены в баллах путем сравнения со стандартами внешнего вида и показаны на данных фигурах во момент времени 9 месяцев. Наблюдения проводили очень близко к свету. Изображенные образцы включают предварительно заполненные шприцы ("PFS"), содержащие состав с трегалозой (фиг. 3A), флаконы, содержащие состав с трегалозой (фиг. 3B), PFS, содержащие состав с аргинином (фиг. 3C), и флаконы, содержащие состав с аргинином (фиг. 3D). Данные подтверждают целевое значение 0,006% PS-20 и диапазон приемлемых значений 0,002-0,01% PS-20 в PFS. Флаконы показаны как наихудший случай сравнения.

40 [0043] На фиг. 18 сравниваются различные способы определения SVP для фиксирования увеличения пропорционально времени замера, что коррелирует с картиной для видимых частиц. Проточная цитометрия и определение количества мелких частиц (> 1 и > 2 мкм) с помощью MFI обеспечивают возможность точного фиксирования тенденции.

45 [0044] Фиг. 19 представляет собой сравнение баллов по стандарту внешнего вида и результатов MFI (частицы > 1 -мкм) для составов с трегалозой в PFS (фиг. 5A) и флаконах (фиг. 5B). Хорошее соответствие наблюдается для двух способов, оба из которых указывают диапазон приемлемых значений 0,002-0,01% PS-20.

50 [0045] На фиг. 20 представлены схема метода крайних вариантов, в общих чертах

описанная в примере 3, и исследование стабильности для лидерной партии, проведенное согласно АВС. Заштрихованная оранжевым цветом область обозначает состав с аргинином, а заштрихованная синим цветом область обозначает состав с трегалозой, все из которых имеют 0,006% PS-20.

- 5 [0046] На фиг. 21 представлен один схематический пример способа очистки антитела.
 [0047] На фиг. 22 представлен 2D-анализ в геле элюата из колонки с белком А, используемой при очистке антитела к IL5R.

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

- [0048] Следует понимать, что конкретные варианты реализации, показанные и 10 описанные в данном документе, являются примерами, и не предполагается, что они в иных обстоятельствах ограничивают объем применения каким-либо образом. Также следует понимать, что каждый из вариантов осуществления и признаков настоящего изобретения, описанных в данном документе, можно комбинировать любыми возможными способами.
- 15 [0049] Опубликованные патенты, заявки на патенты, веб-сайты, названия компаний и научная литература, упоминаемые в данном документе, тем самым включены посредством ссылки в их полноте в той же степени, как если бы было указано, что каждый из них был конкретно и отдельно включен посредством ссылки. Любое противоречие между какими-либо источниками, цитируемыми в данном документе, и 20 конкретными идеями данного описания будет разрешаться в пользу последнего. Подобным образом, любое противоречие между понятным в данной области техники определением слова или фразы и определением слова или фразы, которое конкретно приведено в данном описании, будет разрешаться в пользу последнего.

- [0050] Используемые в данном описании формы единственного числа, в частности, 25 также охватывают формы множественного числа для терминов, к которым они относятся, если по содержанию явно не указано иное.

- [0051] Во всем настоящем раскрытии все выражения процентного содержания, соотношения и т.п. приведены "по весу", если не указано иное. Используемый в данном документе термин "по весу" является синонимом термина "по массе" и указывает на 30 то, что соотношение или процентное содержание, определенное в данном документе, получают, исходя из веса, а не объема, толщины или какой-либо другой меры.

- [0052] Термин "приблизительно", используемый в данном документе, означает примерно, порядка, ориентировочно или около. Если термин "приблизительно" используется совместно с числовым диапазоном, он изменяет этот диапазон, расширяя 35 границы выше и ниже изложенных числовых значений. В целом, термин "приблизительно" используется в данном документе для изменения числового значения выше и ниже приведенного значения с отклонением на 10%.

- [0053] Если не определено иное, используемые в данном документе технические и научные термины имеют значение, обычно понимаемое специалистом в области техники, 40 к которой относится настоящая заявка. В данном документе приводятся ссылки на различные методики и материалы, известные специалистам в данной области. Стандартные справочные работы, в которых изложены общие принципы технологии рекомбинантной ДНК, включают Sambrook *et al.*, "Molecular Cloning: A Laboratory Manual," 2nd Ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York (1989); Kaufman *et al.*, Eds., "Handbook 45 of Molecular and Cellular Methods in Biology in Medicine," CRC Press, Boca Raton (1995); и McPherson, Ed., "Directed Mutagenesis: A Practical Approach," IRL Press, Oxford (1991), раскрытия каждой из которых включены в данный документ посредством ссылки в своей полноте.

[0054] Настоящее изобретение относится к стабильным водным составам на основе антител. Описанный в данном документе термин “состав на основе антител” относится к композиции, содержащей одну или несколько молекул антитела. Термин “антитело” в настоящем изобретении конкретно не ограничен. Для ясности “антитело” понимается в своем самом широком смысле и включает любой иммуноглобулин (Ig), его активные или желаемые варианты и его активные или желаемые фрагменты (например, Fab-фрагменты, антитела верблюда (одноцепочечные антитела) и нанотела). Термин “антитело” может также относиться к димерам или мультимерам. Антитело может быть поликлональным или моноклональным и может быть встречающимся в природе или получаемым рекомбинантным путем. Следовательно, все человеческие, не относящиеся к человеческим, гуманизированные и химерные антитела включены в термин “антитело”. Как правило, антитело представляет собой моноклональное антитело одного из следующих классов: IgG, IgE, IgM, IgD и IgA; и, более типично, представляет собой IgG или IgA.

[0055] Антитело согласно настоящему изобретению может происходить от любого животного, в том числе от птиц и млекопитающих. В некоторых вариантах осуществления антитело согласно способам по настоящему изобретению является антителом человека, мыши (например, мыши и крысы), осла, овцы, кролика, козы, морской свинки, верблюда, лошади или курицы. Используемый в данном документе термин “антитела человека” включает антитела с аминокислотной последовательностью иммуноглобулина человека и включает антитела, выделенные из библиотек иммуноглобулинов человека или из животных, трансгенных по одному или нескольким иммуноглобулинам человека и не экспрессирующих эндогенные иммуноглобулины. См., например, патент США №-5939598 Kucherlapati и соавт.

[0056] Антитело согласно настоящему изобретению может включать, например, нативные антитела, интактные моноклональные антитела, поликлональные антитела, полиспецифические антитела (например, биспецифические антитела), образованные из по меньшей мере двух интактных антител, фрагменты антител (например, фрагменты антител, которые связывают и/или распознают один или несколько антигенов), гуманизированные антитела, антитела человека (Jakobovits et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:2551 (1993); Jakobovits et al., Nature 362:255-258 (1993); Bruggermann et al., Year in Immunol. 7:33 (1993); патенты США №-5591669 и №-5545807), антитела и фрагменты антител, выделенные из фаговых библиотек антител (McCafferty et al., Nature 348:552-554 (1990); Clackson et al., Nature 352:624-628 (1991); Marks et al., J. Mol. Biol. 222:581-597 (1991); Marks et al., Bio/Technology 10:779-783 (1992); Waterhouse et al., Nucl. Acids Res. 21: 2265-2266 (1993)). Антитело, очищенное с помощью способа согласно настоящему изобретению, можно с помощью рекомбинантных методик слить с гетерологичным полипептидом на N- или C-конце или химически конъюгировать (предусматривая ковалентное и нековалентное конъюгирование) с полипептидами или другими композициями. Например, антитело, очищенное с помощью способа согласно настоящему изобретению можно с помощью рекомбинантных методик слить или конъюгировать с молекулами, пригодными в качестве меток при анализах на выявление, и эффекторными молекулами, такими как гетерологичные полипептиды, лекарственные средства или токсины. См., например, РСТ-публикации WO-92/08495; WO-91/14438; WO-89/12624; патент США №-5314995 и EP-396387.

[0057] В некоторых вариантах осуществления состав на основе антител согласно настоящему изобретению содержит антитело к рецептору IL5 (антитело к IL5R). Антитела согласно настоящему изобретению специфично связываются с

представляющим интерес антигеном или его фрагментом и не связываются специфично с другими антигенами или их фрагментами. Например, антитело к IL5R будет иммуноспецифично связываться с полипептидным рецептором интерлейкина-5 и не будет специфично связываться с другими полипептидами. Предпочтительно, антитела или фрагменты антител, которые иммуноспецифично связываются с рецептором IL-5, имеют более высокую аффинность к IL-5 или фрагменту полипептидного рецептора IL-5 по сравнению с аффинностью к другим полипептидам или фрагментам других полипептидов. Аффинность антитела является мерой его связывания со специфическим антигеном в одном участке взаимодействия антигена и антитела и является, в сущности, 5 результатом суммирования всех сил притяжения и отталкивания, присущих при взаимодействии между антигенсвязывающим участком антитела и конкретным эпитопом. Аффинность антитела к конкретному антигену (например, полипептиду IL-5 или фрагменту полипептида IL-5) может быть выражена константой равновесия K, определенной уравнением $K=[Ag Ab]/[Ag][Ab]$, которая представляет собой аффинность 10 паратопа, где [Ag] представляет собой концентрацию свободного антигена, [Ab] представляет собой концентрацию свободного антитела и [Ag Ab] представляет собой концентрацию комплекса антиген-антитело. В случае, когда антиген и антитело интенсивно реагируют друг с другом, будет очень немного свободного антигена или свободного антитела, и, следовательно, константа равновесия или аффинность антитела 15 будет высокой. Антитела с высокой аффинностью обнаруживают в том случае, когда имеется точное соответствие между антигеном и антителом (что касается обсуждения в отношении аффинности антитела, см. Sigal and Ron ed., 1994, Immunology and Inflammation - Basic Mechanisms and Clinical Consequences, McGraw-Hill, Inc. New York на стр. 56-57; и Seymour et al, 1995, Immunology - An Introduction for the Health Sciences, 20 McGraw-Hill Book Company, Australia на стр. 31-32). Предпочтительно, антитела или фрагменты антител, которые иммуноспецифично связываются с полипептидом IL-5 или его фрагментом, не реагируют перекрестно с другими антигенами. Иными словами, антитела или фрагменты антител иммуноспецифично связываются с полипептидом IL-5 или его фрагментом с большей энергией, чем с другими полипептидами или фрагментами 25 других полипептидов (см., например, Paul ed., 1989, Fundamental Immunology, 2nd ed., Raven Press, New York на стр.-332-336 в том, что касается обсуждения в отношении специфичности антитела). Антитела или фрагменты антител, которые иммуноспецифично связываются с полипептидом IL-5, можно идентифицировать, например, с помощью иммунологических анализов, таких как варианты радиоиммунологического анализа 30 (RIA), варианты твердофазного иммуноферментного анализа (ELISA) и варианты анализа на BIAcore или другие методики, известные специалистам в данной области (см., например, Seymour et al, 1995, Immunology - An Introduction for the Health Sciences, McGraw-Hill Book Company, Australia на стр.-33-41 в том, что касается обсуждения 35 различных анализов с целью определения взаимодействий антитело-антigen in vivo). 40 Антитела или фрагменты антител, которые иммуноспецифично связываются с полипептидом IL-5 или его фрагментом, противодействуют только полипептиду IL-5 и не оказывают значительного противодействия другим видам активности.

[0058] В одном варианте осуществления полипептид IL-5R представляет собой IL-5R человека, его аналог, производное или фрагмент. Нуклеотидную последовательность IL-5R человека можно найти в базе данных GenBank (см., например, номер доступа 45 M96652.1). Аминокислотную последовательность IL-5R человека можно найти в базе данных GenBank (см., например, номер доступа Q01344). Каждый из этих номеров доступа явным образом включен в данный документ посредством ссылки.

[0059] В некоторых вариантах осуществления состав на основе антитела содержит антитело к IL5R, например, антитело человека к IL5R. В некоторых вариантах осуществления антитело к IL5R содержит легкую цепь, содержащую SEQ ID NO:2, и тяжелую цепь, содержащую SEQ ID NO: 4. В некоторых дополнительных вариантах осуществления антитело к IL5R содержит вариабельную область легкой цепи, содержащую SEQ ID NO: 1, и вариабельную область тяжелой цепи, содержащую SEQ ID NO: 3. В дополнительном варианте осуществления антитело к IL5R содержит вариабельную область тяжелой цепи и вариабельную область легкой цепи, где вариабельная область тяжелой цепи содержит определенные по Kabat

10 последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 с SEQ ID NO: 5-7, и где вариабельная область легкой цепи содержит определенные по Kabat последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 с SEQ ID NO: 8-10. Специалисты в данной области с легкостью смогут идентифицировать определенные по Chothia, определенные по Abm или другие CDR.

[0060] В одном варианте осуществления антитело к IL5R представляет собой

15 бенрализумаб. Информацию, касающуюся бенрализумаба (или его фрагментов) для применения в способах, предусмотренных в данном документе, можно найти в публикации заявки на патент США №-US 2010/0291073 A1, раскрытие которой включено в данный документ посредством ссылки во всей ее полноте.

[0061] Используемый в данном документе термин "аналог" или "аналог антитела"

20 в контексте антитела относится ко второму антителу, т.е. аналогу антитела, которое имеет функции, подобные или идентичные таковым у антитела, но не обязательно содержит аминокислотную последовательность, подобную или идентичную таковой у антитела, или имеет структуру, подобную или идентичную таковой у антитела.

Антитело, которое имеет подобную аминокислотную последовательность, относится

25 к аналогу антитела, которое удовлетворяет по меньшей мере одному из следующего: (a) аналог антитела с аминокислотной последовательностью, которая по меньшей мере на 30%, по меньшей мере на 35%, по меньшей мере на 40%, по меньшей мере на 45%, по меньшей мере на 50%, по меньшей мере на 55%, по меньшей мере на 60%, по меньшей мере на 65%, по меньшей мере на 70%, по меньшей мере на 75%, по меньшей мере на

30 80%, по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95% или по меньшей мере на 99% идентична аминокислотной последовательности антитела; (b) аналог антитела, кодируемый нуклеотидной последовательностью, которая

гибридизируется в жестких условиях с нуклеотидной последовательностью, кодирующей антитело из по меньшей мере 5 смежных аминокислотных остатков, по меньшей мере

35 10 смежных аминокислотных остатков, по меньшей мере 15 смежных аминокислотных остатков, по меньшей мере 20 смежных аминокислотных остатков, по меньшей мере 25 смежных аминокислотных остатков, по меньшей мере 40 смежных аминокислотных остатков, по меньшей мере 50 смежных аминокислотных остатков, по меньшей мере 60 смежных аминокислотных остатков, по меньшей мере 70 смежных аминокислотных

40 остатков, по меньшей мере 80 смежных аминокислотных остатков, по меньшей мере 90 смежных аминокислотных остатков, по меньшей мере 100 смежных аминокислотных остатков, по меньшей мере 125 смежных аминокислотных остатков или по меньшей мере 150 смежных аминокислотных остатков; и (c) аналог антитела, кодируемый

45 нуклеотидной последовательностью, которая по меньшей мере на 30%, по меньшей мере на 35%, по меньшей мере на 40%, по меньшей мере на 45%, по меньшей мере на 50%, по меньшей мере на 55%, по меньшей мере на 60%, по меньшей мере на 65%, по меньшей мере на 70%, по меньшей мере на 75%, по меньшей мере на 80%, по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95% или по меньшей мере

на 99% идентична нуклеотидной последовательности, кодирующей антитело. Аналог антитела со структурой, подобной таковой у антитела, относится к белковому средству, которое имеет вторичную, третичную или четвертичную структуру, подобную таковой у антитела. Структуру аналога антитела или антитела можно определить с помощью 5 способов, известных специалистам в данной области, включающих, без ограничения, секвенирование пептидов, рентгеновскую кристаллографию, ядерный магнитный резонанс, круговой дихроизм и кристаллографическую электронную микроскопию.

[0062] Для определения процентной идентичности двух аминокислотных последовательностей или двух последовательностей нуклеиновой кислоты 10 последовательности выравнивают с целью оптимального сравнения (например, гэпы можно вводить в первую аминокислотную последовательность или последовательность нуклеиновой кислоты для оптимального выравнивания со второй аминокислотной последовательностью или последовательностью нуклеиновой кислоты). Затем сравнивают аминокислотные остатки или нуклеотиды в соответствующих 15 аминокислотных положениях или нуклеотидных положениях. Если положение в первой последовательности занимает тот же аминокислотный остаток или нуклеотид, что и в соответствующем положении во второй последовательности, то молекулы являются идентичными по этому положению. Процентная идентичность между двумя последовательностями зависит от числа идентичных положений, общих для 20 последовательностей (т.е. % идентичности = количество идентичных перекрывающихся положений/общее количество положений-х-100%). В одном варианте осуществления две последовательности имеют одинаковую длину.

[0063] Определение процентной идентичности между двумя последовательностями также можно выполнить с использованием математического алгоритма. Одним 25 неограничивающим примером математического алгоритма, используемого для сравнения двух последовательностей, является алгоритм Карлина-Альтшуля, 1990, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 87:2264-2268, модифицированный согласно Karlin and Altschul, 1993, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 90:5873-5877. Такой алгоритм включен в программы NBLAST и XBLAST в Altschul et al, 1990, J. Mol. Biol. 215:403. Поиски нуклеотидов 30 согласно BLAST можно проводить с параметрами программы NBLAST для нуклеотидов, установленными, например, для веса выравнивания =100, длины слова =12, для нахождения нуклеотидных последовательностей, гомологичных молекулам нуклеиновой кислоты согласно настоящему изобретению. Поиски белков согласно BLAST можно проводить с параметрами программы XBLAST, установленными, например, для балла 35 -50, длины слова = 3, для нахождения аминокислотных последовательностей, гомологичных молекуле белка согласно настоящему изобретению. Для получения выравниваний с гэпами с целью сравнения можно использовать BLAST с гэпами, описанный в Altschul et al, 1997, Nucleic Acids Res. 25:3389-3402. В качестве альтернативы, PSI-BLAST можно использовать для проведения итеративного поиска, который выявляет 40 дальние связи между молекулами (Id). При использовании программ BLAST, BLAST с гэпами и PSI-Blast можно использовать параметры по умолчанию из соответствующих программ (например, XBLAST и NBLAST) (см., например, веб-сайт NCBI). Другим предпочтительным неограничивающим примером математического алгоритма, используемого для сравнения последовательностей, является алгоритм Миллера- 45 Майерса, 1988, CABIOS 4:11-17. Такой алгоритм включен в программу ALIGN (версия 2.0), которая является частью пакета программного обеспечения для выравнивания последовательностей GCG. При использовании программы ALIGN для сравнения аминокислотных последовательностей можно использовать таблицу весов замен

остатков РАМ 120, штраф за продолжение гэпа 12 и штраф за внесение гэпа 4.

[0064] В некоторых вариантах осуществления антитела в составе на основе антител очищают перед добавлением в состав на основе антител. Термины “выделять” и “очищать” относятся к отделению антитела от примесей или других загрязнителей в

5 композиции, в которой находится антитело, например, композиции, содержащей белки клетки-хозяина. В некоторых вариантах осуществления антитела очищено от примесей по меньшей мере на 50%, 70%, 80%, 90%, 95%, 98%, 99%, 99,5% или 99,9% (вес/вес). Например, в некоторых вариантах осуществления очистка антитела, например, антитела к IL5R, будет включать отделение антитела от 99% (вес/вес) белков клетки-хозяина, 10 изначально присутствующих в композиции.

[0065] В некоторых вариантах осуществления термины “выделять” и “очищать” относятся к отделению антитела, например, антитела к IL5R, от примесей или других загрязнителей в композиции в той степени, которая соответствует рекомендациям 15 правительственной организации, например, Всемирной организации здравоохранения или Управления по контролю качества пищевых продуктов и лекарственных средств США.

[0066] Способы очистки антитела известны специалистам в данной области.

Подходящие методики для проведения очистки включают различные типы 20 хроматографии, такие как аффинная хроматография, хроматография гидрофобных взаимодействий, ионообменная (как, например, катионообменная хроматография или хроматография в смешанном режиме) и фильтрационная хроматография.

[0067] Аффинная хроматография относится к способу разделения, при котором антитело, в силу своих свойств специфичного связывания, связывается с аффинным 25 лигандом для антитела. Функциональный аффинный лиганд может быть иммобилизован на твердой или полутвердой подложке, так что когда композицию, содержащую антитело, пропускают над лигандом и твердой подложкой, антитело, характеризующееся специфической аффинностью связывания с лигандом, адсорбируется на лиганд, а одна 30 или несколько других примесей не адсорбируются (или связываются с более низкой аффинностью) и отделяются от антитела. Примеры примесей, которые, как правило, не связываются (или плохо связываются), включают производственные примеси (например, белки, ДНК клетки-хозяина, компоненты среды) и некоторые родственные примеси (например, фрагменты антитела). В некоторых вариантах осуществления 35 твердую подложку, содержащую лиганд, промывают один или несколько раз буфером для удаления дополнительных примесей перед удалением адсорбированного антитела с лиганда и подложки. После удаления одной или нескольких примесей адсорбированное антитело можно удалить (элюировать) с лиганда и подложки, что в результате приводит 40 к выделению антитела из исходной композиции. Способы удаления антитела с лиганда и подложки зависят от лиганда и известны специалистам в данной области и могут включать, например, изменения среды, например, pH, добавление разобщающих средств либо денатурирующих средств или добавление коммерчески доступных элюирующих 45 буферов. В некоторых вариантах осуществления в отношении композиции антитела можно использовать более одного способа аффинной очистки. Различные аффинные лиганды известны из уровня техники, в том числе белок A и белок G (и их комбинации). Иммобилизованные лиганды являются коммерчески доступными. Например, аффинные системы с белком A включают MabSelect, MabSelect SuRe, MabSelect Xtra, MabSelect SuRe LX, сефарозу CL-4B, ProSep vA, ProSep vA Ultra и Ceramic HyperD.

[0068] Ионообменная хроматография включает катионообменную хроматографию и хроматографию в смешанном режиме. Катионообменная хроматография относится

к любому способу, посредством которого антитело и некоторую примесь или примеси можно разделить на основании различий заряда с использованием катионообменной матрицы. Катионообменная матрица обычно содержит ковалентно связанные отрицательно заряженные группы. Можно использовать слабые или сильные

5 катионообменные смолы. Как правило, сильные катионообменные смолы содержат на подложке органические группы, включающие в себя в зависимости от pH группы сульфоновой кислоты или сульфонатные группы. Слабые катионообменные смолы обычно содержат на подложке органические группы, включающие в себя в зависимости от pH группы карбоновой кислоты или карбоксилатные группы. В определенных 10 вариантах осуществления можно использовать мультимодальные катионообменные смолы, которые предусматривают дополнительные механизмы связывания, а также ионные взаимодействия, например, одно или несколько взаимодействий при образовании водородных связей и гидрофобные взаимодействия. Примеры подходящих катионообменных смол хорошо известны из уровня техники и могут включать, без 15 ограничения, Fractogel, карбоксиметил (CM), сульфоэтил (SE), сульфопропил (SP), фосфат (P) и сульфонат (S), PROPAC WCX-10TM (Dionex), Capto S, S-сефарозу FF, Fractogel EMD SO₃M, Toyopearl Megacap II SP 550C, Poros 50 HS и SP-сефарозную матрицу. В некоторых вариантах осуществления в отношении композиции можно использовать 20 более одного способа катионообменной хроматографии.

20 [0069] Хроматография в смешанном режиме относится к способу, в котором реализуется более одной формы взаимодействия между неподвижной фазой и аналитами для достижения их отделения от примесей (например, производственных примесей, таких как белки, ДНК клетки-хозяина и/или эндогенные или занесенные вирусы).

25 Примеры анионообменных матриц известны из уровня техники и могут включать, без ограничения, Capto Adhere, Sartobind Q, Natrix Q, Chromasorb Q и Mustang Q.

[0070] В некоторых вариантах осуществления для удаления примесей можно применять дополнительные стадии фильтрации. Например, в некоторых вариантах осуществления применяют нанофильтрацию или ультрафильтрацию. Нанофильтрация включает пропускание композиции через матрицу с размером пор, например, менее 75 30 нм, менее 50 нм и даже менее 15 нм, для отделения примесей, например, вирусов, от антитела. Коммерчески доступные нанофильтры и ультрафильтры, которые могут быть использованы, производятся различными поставщиками, такими как Millipore Corporation (Биллерика, Массачусетс, например, Viresolve Pro и Viresolve Pro+), Pall Corporation (Ист Хиллз, Нью-Йорк), GE Healthcare Sciences (Пискатауэй, Нью-Джерси) и Sartorius Corporation (Геттинген, Германия).

[0071] В некоторых вариантах осуществления антитело согласно настоящему изобретению, например, антитело к IL5R, содержащее вариабельную область тяжелой цепи и вариабельную область легкой цепи, где вариабельная область тяжелой цепи содержит определенные по Kabat последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 с SEQ ID

40 NO: 5-7, и где вариабельная область легкой цепи содержит определенные по Kabat последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 с SEQ ID NO: 8-10, имеет концентрацию от 1 мг/мл до 200 мг/мл, от 2 мг/мл до 100 мг/мл, от 2 мг/мл до 30 мг/мл, от 2 мг/мл до 25 мг/мл, от 2 мг/мл до 20 мг/мл, 3 мг/мл, 4 мг/мл, 5 мг/мл, 6 мг/мл, 7 мг/мл, 8 мг/мл, 9 мг/мл, 10 мг/мл, 11 мг/мл, 12 мг/мл, 13 мг/мл, 14 мг/мл, 15 мг/мл, 16 мг/мл, 17 мг/мл, 18 мг/мл, 19 мг/мл или 20 мг/мл. В некоторых вариантах осуществления концентрация антитела согласно настоящему изобретению, например, антитела к IL5R, составляет 45 приблизительно 20 мг/мл, 25 мг/мл, 30 мг/мл, 40 мг/мл, 45 мг/мл, 50 мг/мл, 55 мг/мл, 60 мг/мл, 65 мг/мл, 70 мг/мл, 75 мг/мл, 80 мг/мл, 85 мг/мл, 90 мг/мл, 95 мг/мл или 100 мг/

мл.

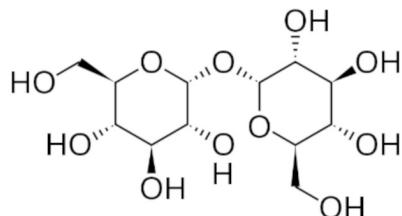
[0072] Состав на основе антител согласно настоящему изобретению может содержать незаряженное вспомогательное вещество. Термин "вспомогательное вещество" относится к фармакологически неактивному веществу, составленному с антителом,

5 как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления вспомогательное вещество может способствовать предотвращению денатурации или иным образом способствовать стабилизации антитела. Подходящие вспомогательные вещества, которые можно применять в фармацевтических композициях, известны из уровня техники. Примеры можно взять, например, из справочника: Gennaro, Alfonso
10 R.: "Remington's Pharmaceutical Sciences", Mack Publishing Company, Easton, Pa., 1990. В некоторых вариантах осуществления вспомогательное вещество представляет собой "незаряженное" вспомогательное вещество, т.е. вспомогательное вещество, не несущее положительный "+" либо отрицательный "-" заряд. В некоторых вариантах осуществления вспомогательное вещество выбрано из группы, состоящей из фруктозы,
15 глюкозы, маннозы, сорбозы, ксилозы, лактозы, мальтозы, сахарозы, декстрана, пуллулана, декстрина, циклодекстринов, растворимого крахмала, трегалозы, сорбита, эритрита, изомальта, лактита, мальтита, ксилита, глицерина, лактита, гидроксиэтилкрахмала, водорастворимых глюканов.

[0073] В некоторых вариантах осуществления незаряженное вспомогательное

20 вещество в составе на основе антител имеет концентрацию от приблизительно 1 мМ до приблизительно 1 М, от приблизительно 2 мМ до приблизительно 500 мМ, от приблизительно 5 мМ до приблизительно 400 мМ, от приблизительно 10 мМ до приблизительно 300 мМ или от приблизительно 20 мМ до приблизительно 250 мМ. В некоторых вариантах осуществления незаряженное вспомогательное вещество в составе
25 на основе антител имеет концентрацию от приблизительно 5 мМ до приблизительно 150 мМ, от приблизительно 10 мМ до приблизительно 100 мМ, от приблизительно 20 мМ до приблизительно 80 мМ, приблизительно 30 мМ, приблизительно 40 мМ, приблизительно 50 мМ, приблизительно 60 мМ или приблизительно 70 мМ, например, в составе на основе антител, содержащем от 2 до 20 мг/мл антитела. В одном варианте
30 осуществления незаряженное вспомогательное вещество в составе на основе антител имеет концентрацию приблизительно 50 мМ. В некоторых вариантах осуществления незаряженное вспомогательное вещество в составе на основе антител имеет концентрацию от приблизительно 50 мМ до приблизительно 800 мМ, от приблизительно 100 мМ до приблизительно 500 мМ, от приблизительно 150 мМ до приблизительно 400
35 мМ, приблизительно 200 мМ, приблизительно 400 мМ, приблизительно 200 мМ, приблизительно 300 мМ или приблизительно 250 мМ, например, в составе на основе антител, содержащем от 20 до 100 мг/мл антитела. В одном варианте осуществления незаряженное вспомогательное вещество в составе на основе антител имеет концентрацию приблизительно 250 мМ.

40 [0074] В некоторых вариантах осуществления незаряженным вспомогательным веществом является трегалоза, представленная формулой:



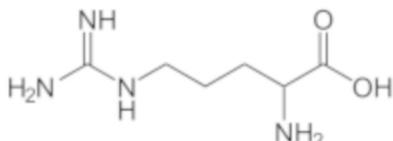
[0075] В некоторых вариантах осуществления трегалоза в составе на основе антител

имеет концентрацию от приблизительно 1 мМ до приблизительно 1 М, от приблизительно 2 мМ до приблизительно 500 мМ, от приблизительно 5 мМ до приблизительно 400 мМ, от приблизительно 10 мМ до приблизительно 300 мМ или от приблизительно 20 мМ до приблизительно 250 мМ. В некоторых вариантах

- 5 осуществления трегалоза в составе на основе антител имеет концентрацию от приблизительно 5 мМ до приблизительно 150 мМ, от приблизительно 10 мМ до приблизительно 100 мМ, от приблизительно 20 мМ до приблизительно 80 мМ, приблизительно 30 мМ, приблизительно 40 мМ, приблизительно 50 мМ, приблизительно 60 мМ или приблизительно 70 мМ, например, в составе на основе антител, содержащем
- 10 от 2 до 20 мг/мл антитела. В одном варианте осуществления трегалоза в составе на основе антител имеет концентрацию приблизительно 50 мМ. В некоторых вариантах осуществления трегалоза в составе на основе антител имеет концентрацию от приблизительно 50 мМ до приблизительно 800 мМ, от приблизительно 100 мМ до приблизительно 500 мМ, от приблизительно 150 мМ до приблизительно 400 мМ,
- 15 приблизительно 200 мМ, приблизительно 400 мМ, приблизительно 200 мМ, приблизительно 300 мМ или приблизительно 250 мМ, например, в составе на основе антител, содержащем от 20 до 100 мг/мл антитела. В одном варианте осуществления трегалоза в составе на основе антител имеет концентрацию приблизительно 250 мМ.

[0076] Состав на основе антител согласно настоящему изобретению содержит аргинин.

- 20 Аргинин представляет собой условно заменимую аминокислоту, которая может быть представлена формулой:



- 25 Используемый в данном документе аргинин может включать свободную основную форму аргинина, а также любые возможные его соли. В некоторых вариантах осуществления аргинин включает его фармацевтически приемлемую соль. Например, аргинин будет включать гидрохлорид аргинина. Используемый в данном документе аргинин также включает все энантиомеры (например, L-аргинин и S-аргинин) и любую комбинацию энантиомеров (например, 50% L-аргинина и 50% S-аргинина; 90-100% L-аргинина и 10-0% S-аргинина и т.д.). В некоторых вариантах осуществления термин “аргинин” включает более 99% L-аргинина и менее 1% S-аргинина. В некоторых вариантах осуществления термин “аргинин” включает энантиомерно чистый L-аргинин.
- 35 В некоторых вариантах осуществления аргинин представляет собой аргинин фармацевтической степени чистоты.

- [0077] В составе на основе антител могут присутствовать различные концентрации аргинина. В некоторых вариантах осуществления состав на основе антител содержит более 50 мМ аргинина, более 75 мМ аргинина, более 100 мМ аргинина, более 125 мМ аргинина, более 130 мМ аргинина, более 150 мМ аргинина, более 175 мМ аргинина или более 200 мМ аргинина.

- [0078] В некоторых вариантах осуществления состав на основе антител содержит до 800 мМ аргинина, до 600 мМ аргинина, до 400 мМ аргинина, до 200 мМ аргинина, до 150 мМ аргинина, до 130 мМ аргинина или до 125 мМ аргинина. В некоторых вариантах осуществления состав на основе антител содержит от 50 мМ до 300 мМ, от 75 мМ до 250 мМ, от 100 мМ до 200 мМ, от 110 мМ до 160 мМ, от 120 мМ до 150 мМ или приблизительно 125 мМ аргинина. В некоторых вариантах осуществления состав на основе антител содержит 125 мМ аргинина. В некоторых вариантах осуществления

состав на основе антител содержит 130 мМ аргинина. В некоторых вариантах осуществления аргинин добавляют в количестве, достаточном для поддержания осмоляльности состава. В некоторых вариантах осуществления аргинин добавляют в количестве, достаточном для получения гипертонического раствора. Заявители

5 обнаружили, что в некоторых вариантах осуществления повышенная ионная сила составов на основе антител обеспечивает повышение стабильности и уменьшение образования частиц.

[0079] Описанные в данном документе составы на основе антител могут иметь различные значения вязкости. Способы измерения вязкости составов на основе антител 10 известны специалистам в данной области и могут включать, например, измерение реометром (например, реометром Anton Paar MCR301 с любым из пластинчатых элементов на 50 мМ, 40 мМ или 20 мМ). В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения значения вязкости регистрировали при высоком пределе сдвига, соответствующем скорости сдвига 1000 в секунду. В некоторых вариантах 15 осуществления состав на основе антител имеет вязкость менее 20-сантипуазов (сП), менее 18-сП, менее 15-сП, менее 13-сП или менее 11-сП. В некоторых вариантах осуществления состав на основе антител имеет вязкость менее 13-сП. Специалист в данной области поймет, что вязкость зависит от температуры, поэтому, если не определено иное, значения вязкости, представленные в данном документе, измерены 20 при 25°C, если не указано иное.

[0080] Термин “усилие нагнетания” представляет собой величину давления (в ньютонах), необходимого для пропускания состава на основе антител через иглу. Усилие нагнетания коррелирует с величиной сопротивления, создаваемого составом 25 на основе антител при введении субъекту состава на основе антител. Усилие нагнетания будет зависеть от калибра иглы для введения, а также от температуры. В некоторых вариантах осуществления состав на основе антител характеризуется усилием нагнетания менее 15-Н, 12-Н, 10-Н или 8-Н при пропускании через тонкостенную иглу PFS 27 калибра. В некоторых вариантах осуществления состав на основе антител 30 характеризуется усилием нагнетания менее 15-Н, 12-Н, 10-Н или 8-Н при пропускании через тонкостенную иглу PFS 29 калибра.

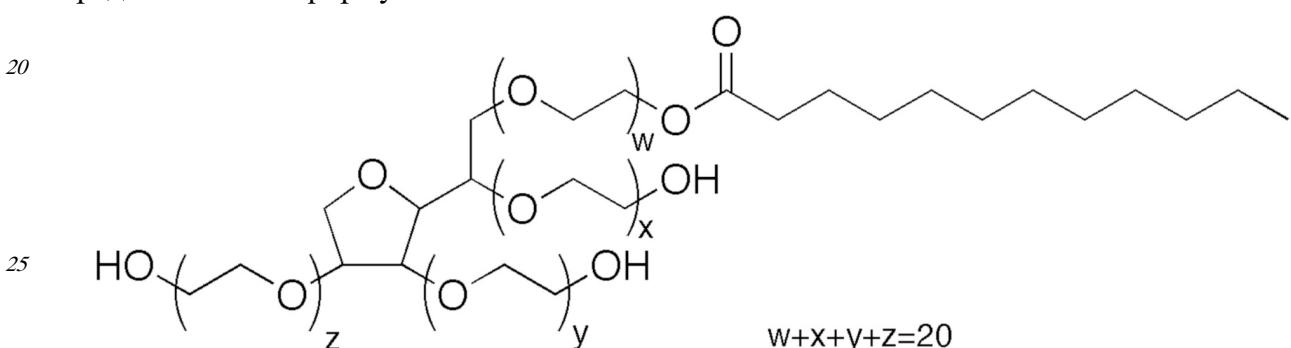
[0081] Составы на основе антител могут характеризоваться различными осмолярными концентрациями. Способы измерения осмолярности составов на основе антител известны специалистам в данной области и могут включать, например, измерение осмометром (например, осмометром Advanced Instrument Inc 2020, измеряющим понижение 35 температуры замерзания). В некоторых вариантах осуществления состав имеет осмолярность 200-600-мосм/кг, 260-500-мосм/кг или 300-450-мосм/кг.

[0082] Состав на основе антител согласно настоящему изобретению может иметь различные уровни pH. В некоторых вариантах осуществления pH состава на основе антител составляет от 4 до 7, от 4,5 до 6,5 или от 5 до 6. В некоторых вариантах 40 осуществления pH состава на основе антител составляет 5,0. В некоторых вариантах осуществления pH состава на основе антител составляет 6,0. В некоторых вариантах осуществления pH состава на основе антител составляет ≥7,0. Для достижения желаемого уровня pH можно использовать различные способы, в том числе, без ограничения, добавление соответствующего буфера.

[0083] Различные другие компоненты можно включить в состав на основе антител. В некоторых вариантах осуществления состав на основе антител может содержать буфер (например, гистидиновый, ацетатный, фосфатный или цитратный буфер), 45 поверхностно-активное вещество (например, полисорбат) и/или стабилизатор (например,

человеческий альбумин) и т.д. В некоторых вариантах осуществления состав на основе антител может содержать фармацевтически приемлемые носители, в том числе, например, ионообменные смолы, оксид алюминия, стеарат алюминия, лецитин, сывороточные белки, такие как человеческий сывороточный альбумин, буферные вещества, такие как фосфаты, сахароза, глицин, сорбиновая кислота, сорбат калия, смеси неполных глицеридов насыщенных растительных жирных кислот, воду, соли или электролиты, такие как сульфат протамина, гидрофосфат динатрия, гидрофосфат калия, хлорид натрия, соли цинка, коллоидный диоксид кремния, трициликат магния, поливинилпирролидон, вещества на основе целлюлозы, полиэтиленгликоль, натрий-5 карбоксиметилцеллюлозу, поликарилаты, блок-сополимеры полиэтилена и полиоксипропилена и полиэтиленгликоль. В некоторых вариантах осуществления состав на основе антител дополнительно содержит поверхностно-активное вещество. В некоторых вариантах осуществления поверхностно-активное вещество выбрано из группы, состоящей из полисорбата, додецилсульфата натрия и неионогенного 10 поверхностно-активного вещества.

15 [0084] В некоторых вариантах осуществления поверхностно-активное вещество представляет собой полисорбат-20, т.е. полиоксиэтилен-(20)-сорбитанмонолаурат, представленный формулой:



Полисорбат 20 (PS-20) коммерчески доступен от нескольких коммерческих поставщиков, например, Alkest® TW 20 (Oxiteno, Бразилия) и Tween® 20 (Pierce, Рокфорд, 30 Иллинойс). Заявители обнаружили, что при тщательном контроле концентрации PS-20 в составе на основе антител антитело характеризовалось увеличением стабильности и характеризовалось снижением количества образующихся частиц при хранении в течение длительных периодов времени.

35 [0085] В некоторых вариантах осуществления PS-20 в составе на основе антител имеет концентрацию от приблизительно 0,001% до приблизительно 0,02%, от приблизительно 0,002% до приблизительно 0,015%, от приблизительно 0,002% до приблизительно 0,01%, от приблизительно 0,004% до приблизительно 0,009%, от приблизительно 0,005% до приблизительно 0,008%, приблизительно 0,007% или приблизительно 0,006%.

40 [0086] В некоторых вариантах осуществления состав на основе антител дополнительно содержит гистидин. В некоторых вариантах осуществления состав на основе антител содержит от приблизительно 1 мМ до приблизительно 100 мМ, от приблизительно 5 мМ до приблизительно 80 мМ гистидина, от приблизительно 10 мМ до приблизительно 60 мМ гистидина, от приблизительно 15 мМ до приблизительно 50 мМ гистидина, от 45 приблизительно 15 мМ до приблизительно 30 мМ гистидина или приблизительно 20 мМ гистидина.

[0087] В некоторых вариантах осуществления различные компоненты можно не включать в состав на основе антител или он может “практически не содержать” данный

компонент. Используемый в данном документе термин "практически не содержит" относится к составу на основе антител, при этом указанный состав содержит менее 0,01%, менее 0,001%, менее 0,0005%, менее 0,0003% или менее 0,0001% указанного компонента.

- 5 [0088] В некоторых вариантах осуществления состав на основе антител практически не содержит сахарид, т.е. в составе на основе антител указанный состав содержит менее 0,01%, менее 0,001%, менее 0,0005%, менее 0,0003% или менее 0,0001% сахара.
Используемый в данном документе термин "сахарид" относится к классу молекул, которые являются производными многоатомных спиртов. Сахаридами обычно
- 10 называются углеводы, и они могут содержать разные количества сахарных (сахаридных) звеньев, например, будучи моносахаридами, дисахаридами и полисахаридами. В некоторых вариантах осуществления состав практически не содержит дисахариды. В некоторых вариантах осуществления состав практически не содержит восстанавливающий сахар, невосстанавливающий сахар или сахарный спирт. В
- 15 некоторых вариантах осуществления состав на основе антител практически не содержит пролин, глутамат, сорбит, ионы двухвалентных металлов и/или сукцинат.

[0089] В некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение относится к стабильному водному составу на основе антител, содержащему: (a) от приблизительно 2 мг/мл до приблизительно 20 мг/мл антитела, где антитело содержит вариабельную

20 область тяжелой цепи и вариабельную область легкой цепи, где вариабельная область тяжелой цепи содержит определенные по Kabat последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 с SEQ ID NO: 5-7, и где вариабельная область легкой цепи содержит определенные по Kabat последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 с SEQ ID NO: 8-10, (b) от приблизительно 0,002% до приблизительно 0,01% полисорбата-20, (c) от приблизительно

25 40 мМ до приблизительно 60 мМ трегалозы и (d) от приблизительно 110 мМ до приблизительно 150 мМ L-аргинина. В некоторых вариантах осуществления состав дополнительно содержит приблизительно 20 мМ гистидина. В одном варианте осуществления настоящее изобретение относится к стабильному водному составу на основе антител, содержащему: (a) от приблизительно 2 мг/мл до приблизительно 20 мг/мл антитела, где антитело содержит вариабельную область тяжелой цепи и вариабельную

30 область легкой цепи, где вариабельная область тяжелой цепи содержит определенные по Kabat последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 с SEQ ID NO: 5-7, и где вариабельная область легкой цепи содержит определенные по Kabat последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 с SEQ ID NO: 8-10, (b) приблизительно 0,006% полисорбата-20, (c)

35 приблизительно 50 мМ трегалозы, (d) приблизительно 130 мМ L-аргинина и (e) приблизительно 20 мМ гистидина.

[0090] В некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение относится к стабильному водному составу на основе антител, содержащему: (a) от приблизительно 20 мг/мл до приблизительно 100 мг/мл антитела, где антитело содержит вариабельную

40 область тяжелой цепи и вариабельную область легкой цепи, где вариабельная область тяжелой цепи содержит определенные по Kabat последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 с SEQ ID NO: 5-7, и где вариабельная область легкой цепи содержит определенные по Kabat последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 с SEQ ID NO: 8-10, (b) от приблизительно 0,002% до приблизительно 0,01% полисорбата-20, (c) от приблизительно

45 200 мМ до приблизительно 300 мМ трегалозы и (d) приблизительно 20 мМ гистидина. В одном варианте осуществления настоящее изобретение относится к стабильному водному составу на основе антител, содержащему: (a) от приблизительно 20 мг/мл до приблизительно 100 мг/мл антитела, где антитело содержит вариабельную область

тяжелой цепи и вариабельную область легкой цепи, где вариабельная область тяжелой цепи содержит определенные по Kabat последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 с SEQ ID NO: 5-7, и где вариабельная область легкой цепи содержит определенные по Kabat последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 с SEQ ID NO: 8-10, (b) приблизительно 0,006%

5 полисорбата-20, (c) приблизительно 250 мМ трегалозы и (d) приблизительно 20 мМ гистидина. В другом варианте осуществления настоящее изобретение относится к стабильному водному составу на основе антител, содержащему: (a) приблизительно 30 мг/мл антитела, где антитело содержит вариабельную область тяжелой цепи и вариабельную область легкой цепи, где вариабельная область тяжелой цепи содержит определенные по Kabat последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 с SEQ ID NO: 5-7, и где вариабельная область легкой цепи содержит определенные по Kabat последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 с SEQ ID NO: 8-10, (b) приблизительно 0,006% 10 полисорбата-20, (c) приблизительно 250 мМ трегалозы и (d) приблизительно 20 мМ гистидина.

15 [0091] Составы на основе антител согласно настоящему изобретению являются водными растворами. В некоторых вариантах осуществления состав на основе антител не подвергали действию температур замерзания и/или не замораживали, т.е. он оставался в жидком состоянии. В некоторых вариантах осуществления антитело в составе на основе антител не подвергали лиофилизации.

20 [0092] Используемый в данном документе термин "стабильность" в целом относится к сохранению целостности или к сведению к минимуму разрушения, денатурации, агрегации или развертывания биологически активного средства, такого как белок, пептид или другая биологически активная макромолекула. Используемый в данном документе термин "улучшенная стабильность" в целом означает, что при условиях, 25 которые, как известно, приводят к разрушению, денатурации, агрегации или развертыванию белка (например, антитела, такого как антитело к IL5R), пептид или другая биологически активная макромолекула, представляющие интерес, сохраняют большую стабильность по сравнению с контрольным белком, пептидом или другой биологически активной макромолекулой.

30 [0093] В некоторых вариантах осуществления стабильность относится к составу на основе антител, характеризующемуся уровнями образования частиц от низкого до невыявляемого. Используемая в данном документе фраза "уровни образования частиц от низкого до невыявляемого" относится к образцам, содержащим менее 30-частиц/мл, менее 20-частиц/мл, менее 15-частиц/мл, менее 10-частиц/мл, менее 35 5-частиц/мл, менее 2-частиц/мл или менее 1-частицы/мл, что определяют с помощью анализа на НІАС или визуального анализа. В некоторых вариантах осуществления в составе на основе антител не выявляют частицы с помощью анализа НІАС либо визуального анализа.

40 [0094] В некоторых вариантах осуществления стабильность относится к пониженной фрагментации антитела. Используемый в данном документе термин "уровни фрагментации от низкого до невыявляемого" относится к образцам, содержащим количество общего белка, равное или превышающее 80%, 85%, 90%, 95%, 98% или 99%, например, в одном пике, что определяют с помощью HPSEC, или в двух пиках (например, для тяжелых и легких цепей) (или в таком же количестве пиков, сколько существует и 45 субъединиц), при определении с помощью капиллярного гель-электрофореза в восстанавливающих условиях (гCGE), представляющее неразрушенное антитело или его неразрушенный фрагмент, и не содержащим других отдельных пиков, содержащих более 5%, более 4%, более 3%, более 2%, более 1% или более 0,5% общего белка в

каждом. Используемый в данном документе термин "капиллярный гель-электрофорез в восстанавливающих условиях" относится к капиллярному гель-электрофорезу в восстанавливающих условиях, достаточных для восстановления дисульфидных связей в антителе.

5 [0095] Специалист в данной области поймет, что стабильность белка зависит от других характеристик, помимо композиции состава. Например, на стабильность могут влиять температура, давление, влажность, pH и внешние формы излучения.

10 Следовательно, если не определено иное, считается, что упоминаемую в данном документе стабильность измеряют при температуре 5°C, давлении в одну атмосферу, относительной влажности 50%, pH 6,0 и нормальных фоновых уровнях излучения.

15 Стабильность антитела в составе на основе антител можно определить с помощью различных способов. В некоторых вариантах осуществления стабильность антитела определяют с помощью эксклюзионной хроматографии (SEC). С помощью SEC разделяют аналиты (например, макромолекулы, такие как белки и антитела) на основании комбинации их гидродинамического размера, коэффициента диффузии и поверхностных свойств. Таким образом, например, с помощью SEC можно отделять антитела в их естественной трехмерной конформации от антител в различных состояниях денатурации и/или антител, которые подверглись разрушению. В SEC неподвижная фаза обычно состоит из инертных частиц, упакованных в плотную трехмерную матрицу 20 внутри стеклянной или стальной колонки. Подвижная фаза может представлять собой чистую воду, водный буфер, органический растворитель, их смеси или другие растворители. Частицы неподвижной фазы имеют небольшие поры и/или каналы, позволяющие прохождение только тех молекул, которые имеют размер меньше определенной величины. Большие частицы, таким образом, исключаются из этих пор 25 и каналов, а меньшие частицы удаляются из текучей подвижной фазы. Время, которое частицы проводят иммобилизованными в порах в неподвижной фазе, отчасти зависит от того, как далеко они могут проникать в поры. Их удаление из потока подвижной фазы является причиной их более длительного элюирования из колонки и приводит к разделению частиц на основании различий в их размере.

30 [0096] В некоторых вариантах осуществления SEC объединяют с методикой идентификации для идентификации или получения характеристик белков или их фрагментов. Идентификацию и получение характеристик белка можно выполнить с помощью различных методик, в том числе, без ограничения, хроматографических методик, например, высокоэффективной жидкостной хроматографии (HPLC), 35 иммунологических анализов, электрофореза, спектроскопии в ультрафиолетовой/видимой/инфракрасной областях спектра, спектроскопии комбинационного рассеяния, спектроскопии усиленного поверхностью комбинационного рассеяния, масс-спектроскопии, газовой хроматографии, статического светорассеяния (SLS), инфракрасной спектроскопии с преобразованием Фурье (FTIR), кругового дихроизма (CD), методик развертывания белка под воздействием мочевины, собственной 40 флуоресценции триптофана, дифференциальной сканирующей калориметрии и/или связывания белка с ANS.

45 [0097] В некоторых вариантах осуществления идентификацию белка осуществляют посредством жидкостной хроматографии высокого давления. Различные инструменты и аппараты для проведения HPLC известны специалистам в данной области. Как правило, HPLC включает загрузку жидкого растворителя, содержащего белок, представляющий интерес, на колонку для разделения, в которой происходит разделение. Колонку для разделения с помощью HPLC заполняют твердыми частицами (например, диоксида

кремния, полимеров или сорбентов), и смесь с образцом разделяют на соединения, поскольку она взаимодействует с частицами в колонке. На разделение с помощью HPLC оказывают влияние состояние жидкого растворителя (например, давление, температура), химические взаимодействия между смесью с образцом и жидким растворителем

5 (например, гидрофобность, протонирование и т.д.) и химические взаимодействия между смесью с образцом и твердыми частицами, упакованными внутри колонки для разделения (например, аффинность лиганда, ионный обмен и т.д.).

10 [0098] В некоторых вариантах осуществления SEC и идентификация белка происходит в одном и том же аппарате, или одновременно. Например, SEC и HPLC можно объединять, что часто называется SE-HPLC.

[0099] В некоторых вариантах осуществления водный состав содержит от приблизительно 2 мг/мл до приблизительно 100 мг/мл антитела, где антитело содержит вариабельную область тяжелой цепи и вариабельную область легкой цепи, где вариабельная область тяжелой цепи содержит определенные по Kabat

15 последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 с SEQ ID NO: 5-7, и где вариабельная область легкой цепи содержит определенные по Kabat последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 с SEQ ID NO: 8-10, при этом указанный состав является стабильным при хранении при приблизительно 40°C в течение по меньшей мере 1 месяца. В некоторых вариантах

20 осуществления состав является стабильным при хранении при приблизительно 25°C в течение по меньшей мере 3 месяцев. В некоторых вариантах осуществления состав является стабильным при хранении при приблизительно 5°C в течение по меньшей мере 6 месяцев. В некоторых вариантах осуществления состав является стабильным при

25 хранении при приблизительно 5°C в течение по меньшей мере 12 месяцев. В некоторых вариантах осуществления состав является стабильным при хранении при приблизительно 5°C в течение по меньшей мере 18 месяцев. В некоторых вариантах осуществления состав является стабильным при хранении при приблизительно 5°C в течение по меньшей мере 24 месяцев или 36 месяцев.

30 [00100] Термин “стабильный” может быть относительным, а не абсолютным. Таким образом, в некоторых вариантах осуществления антитело является стабильным, если менее 20%, менее 15%, менее 10%, менее 5% или менее 2% антитела разрушается, денатурирует, агрегирует или разворачивается, что определяют с помощью SEC HPLC, при хранении антитела при

35 2°C-8°C в течение 6 месяцев. В некоторых вариантах осуществления антитело является стабильным, если менее 20%, менее 15%, менее 10%, менее 5% или менее 2% антитела разрушается, денатурирует, агрегирует или разворачивается, что определяют с помощью SEC HPLC, при хранении антитела при

40 2°C-8°C в течение 12 месяцев. В некоторых вариантах осуществления антитело в составе на основе антител является стабильным, если менее 20%, менее 15%, менее 10%, менее 5% или менее 2% антитела разрушается, денатурирует, агрегирует или разворачивается, что определяют с помощью SEC HPLC, при хранении антитела при 2°C-8°C в течение 18 месяцев. В некоторых вариантах осуществления антитело в составе на основе антител является стабильным, если менее 20%, менее 15%, менее 10%, менее 5% или менее 2% антитела разрушается, денатурирует, агрегирует или разворачивается, что определяют с помощью SEC HPLC, при хранении антитела при 2°C-8°C в течение 24 месяцев.

45 [00101] В некоторых вариантах осуществления антитело является стабильным, если менее 20%, менее 15%, менее 10%, менее 5% или менее 2% антитела разрушается,

денатурирует, агрегирует или разворачивается, что определяют с помощью SEC HPLC, при хранении антитела при 23°C-27°C в течение 3 месяцев. В некоторых вариантах осуществления антитело является стабильным, если менее 20%, менее 15%, менее 10%, менее 5% или менее 2% антитела разрушается, денатурирует, агрегирует или

5 разворачивается, что определяют с помощью SEC HPLC, при хранении антитела при 23°C-27°C в течение 6 месяцев. В некоторых вариантах осуществления антитело является стабильным, если менее 20%, менее 15%, менее 10%, менее 5% или менее 2% антитела разрушается, денатурирует, агрегирует или разворачивается, что определяют с помощью

10 SEC HPLC, при хранении антитела при 23°C-27°C в течение 12 месяцев. В некоторых вариантах осуществления антитело является стабильным, если менее 20%, менее 15%, менее 10%, менее 5% или менее 2% антитела разрушается, денатурирует, агрегирует или разворачивается, что определяют с помощью SEC HPLC, при хранении антитела при 23°C-27°C в течение 24 месяцев.

15 [00102] В некоторых вариантах осуществления антитело является стабильным, если менее 6%, менее 4%, менее 3%, менее 2% или менее 1% антитела разрушается, денатурирует, агрегирует или разворачивается за месяц, что определяют с помощью SEC HPLC, при хранении антитела при 40°C. В некоторых вариантах осуществления антитело является стабильным, если менее 6%, менее 4%, менее 3%, менее 2% или менее 1% антитела разрушается, денатурирует, агрегирует или разворачивается за месяц, что определяют с помощью SEC HPLC, при хранении антитела при 5°C.

20 [00103] В некоторых вариантах осуществления составы на основе антител согласно настоящему изобретению можно считать стабильными, если антитело характеризуется потерей связывающей активности антитела (в том числе фрагментов данного антитела) в составе по сравнению с эталонным антителом от очень незначительной до отсутствующей, что измеряют с помощью анализов связывания антитела, известных специалистам в данной области, таких как, например, ELISA и т.д., в течение периода 8 недель, 4 месяцев, 6 месяцев, 9 месяцев, 12 месяцев или 24 месяцев. В некоторых вариантах осуществления антитело, хранящееся при приблизительно 40°C в течение по меньшей мере 1 месяца, сохраняет по меньшей мере 80%, по меньшей мере приблизительно 85%, по меньшей мере приблизительно 90%, по меньшей мере приблизительно 95%, по меньшей мере приблизительно 98% или по меньшей мере приблизительно 99% способности к связыванию с полипептидным рецептором IL-5 по сравнению с эталонным антителом, которое не подвергалось хранению. В некоторых вариантах осуществления антитело, хранящееся при приблизительно 5°C в течение по меньшей мере 6 месяцев, сохраняет по меньшей мере 80%, по меньшей мере приблизительно 85%, по меньшей мере приблизительно 90%, по меньшей мере приблизительно 95%, по меньшей мере приблизительно 98% или по меньшей мере приблизительно 99% способности к связыванию с полипептидным рецептором IL-5 по сравнению с эталонным антителом, которое не подвергалось хранению. В некоторых вариантах осуществления антитело, хранящееся при приблизительно 40°C в течение по меньшей мере 1 месяца, сохраняет по меньшей мере 95% способности к связыванию с полипептидным рецептором IL-5 по сравнению с эталонным антителом, которое не подвергалось хранению. В некоторых вариантах осуществления антитело, хранящееся при приблизительно 5°C в течение по меньшей мере 6 месяцев, сохраняет по меньшей мере 95% способности к связыванию с полипептидным рецептором IL-5 по сравнению с эталонным антителом, которое не подвергалось хранению.

[00104] Составы на основе антител могут обеспечить уровни агрегации антитела от низкого до невыявляемого. Используемая в данном документе фраза “уровни агрегации от низкого до невыявляемого” относится к образцам, содержащим не более чем приблизительно 5%, не более чем приблизительно 4%, не более чем приблизительно

5 3%, не более чем приблизительно 2%, не более чем приблизительно 1% и не более чем приблизительно 0,5% агрегатов по весу белка, что измеряют с помощью методик высокоэффективной эксклюзационной хроматографии (HPSEC) или статического светорассеяния (SLS). В некоторых вариантах осуществления менее 2% антител образуют агрегат при хранении при приблизительно 40°C в течение по меньшей мере 4 недель,

10 что определяют с помощью HPSEC. В некоторых вариантах осуществления менее 2% антител образуют агрегат при хранении при приблизительно 5°C в течение по меньшей мере 3 месяцев, по меньшей мере 6 месяцев, по меньшей мере 9 месяцев, по меньшей мере 12 месяцев, по меньшей мере 15 месяцев, по меньшей мере 18 месяцев, по меньшей мере 24 месяцев или по меньшей мере 36 месяцев, что определяют с помощью HPSEC.

15 [00105] Заявители обнаружили, что в представленных в данном документе составах на основе антител обуславливается значительное снижение образования частиц, что определяют с помощью визуального контроля, визуализации микропотока (MFI) или эксклюзационной хроматографии (SEC). В некоторых вариантах осуществления состав практически не содержит частиц при хранении при приблизительно 40°C в течение по

20 меньшей мере 1 месяца, что определяют с помощью визуального контроля. В некоторых вариантах осуществления состав практически не содержит частиц при хранении при приблизительно 5°C в течение по меньшей мере 6 месяцев, по меньшей мере 9 месяцев, по меньшей мере 12 месяцев, по меньшей мере 15 месяцев, по меньшей мере 18 месяцев, по меньшей мере 24 месяцев или по меньшей мере 36 месяцев, что определяют с помощью

25 визуального контроля.

[00106] В некоторых вариантах осуществления состав на основе антител согласно настоящему изобретению можно применять в фармацевтических целях. Применяемые в фармацевтических целях антитела обычно должны характеризоваться высоким уровнем чистоты, особенно в отношении загрязнителей из культуры клеток, включающих загрязняющие клеточные белки, загрязняющие клеточные ДНК, вирусы и другие передаваемые средства. См. “WHO Requirements for the use of animal cells as *in vitro* substrates for the production of biologicals: Requirements for Biological Substances №-50.” №-878. Annex 1, 1998. С учетом опасений относительно загрязнителей Всемирная организация здравоохранения (WHO) установила предельно допустимые значения

30 уровней различных загрязнителей. Например, WHO рекомендовала предельно допустимое содержание ДНК менее 10-нг на дозу белковых продуктов. Подобным образом, Управление по контролю качества пищевых продуктов и лекарственных средств США (FDA) установило предельно допустимое содержание ДНК, меньшее или равное 0,5-пг/мг белка. Следовательно, в некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение относится к составам на основе антител, уровни загрязнителей в которых удовлетворяют предельно допустимым значениям, определенным одной или несколькими правительственныеими организациями, например, Управлением по контролю качества пищевых продуктов и лекарственных средств США и/или Всемирной организацией здравоохранения, или превышают их.

35

[00107] В некоторых вариантах осуществления состав на основе антител, описанный в данном документе, является фармацевтически приемлемым. “Фармацевтически приемлемый” относится к составу на основе антител, который по результатам тщательной медицинской оценки подходит для контакта с тканями человеческого

организма и животных без чрезмерной токсичности или других осложнений в соответствии с разумным соотношением польза/риск.

[00108] Чистота составов на основе антител может варьировать. В некоторых вариантах осуществления терапевтическое антитело, представляющее интерес, например, антитело к IL5R, составляет более 90% (вес/вес) всех полипептидов, присутствующих в составе на основе антител. В некоторых вариантах осуществления терапевтическое антитело, представляющее интерес, например, антитело к IL5R, составляет более 95% (вес/вес), 98% (вес/вес), 99% (вес/вес), 99,5% (вес/вес) или 99,9% (вес/вес) всех полипептидов, присутствующих в составе на основе антител.

[00109] Представленные в данном документе составы могут быть подходящими для лечения субъекта. Используемый в данном документе термин "субъект" можно использовать взаимозаменяя с "пациентом", и он относится к любому животному, классифицируемому как млекопитающее, в том числе к людям и животным, отличным от людей, таким как, без ограничения, домашние и сельскохозяйственные животные, животные из зоопарка, животные, участвующие в спортивных соревнованиях, и домашние любимцы. В некоторых вариантах осуществления субъект относится к человеку.

[00110] Термины "лечить" и "лечение" относятся как к терапевтическому лечению, так и к профилактическим, поддерживающим или предупреждающим мерам, где цель заключается в предупреждении или облегчении (ослаблении) нежелательного физиологического состояния, нарушения или заболевания или получения благоприятных или желаемых клинических результатов. Термины "лечить", "лечение" и "процесс лечения" относятся к снижению или уменьшению прогрессирования, тяжести и/или продолжительности такого заболевания или нарушения (например, заболевания или нарушения, характеризующегося аномальной экспрессией и/или активностью полипептида IL-5, заболевания или нарушения, характеризующегося аномальной экспрессией и/или активностью полипептида IL-5 или одной или нескольких его субединиц, аутоиммунного заболевания, воспалительного заболевания, пролиферативного заболевания или инфекции) или ослаблению одного или нескольких симптомов в результате применения одного или нескольких видов терапии (в том числе, без ограничения, введения одного или нескольких профилактических или терапевтических средств). В определенных вариантах осуществления такие термины относятся к уменьшению воспаления, связанного с опосредованным эозинофилами воспалением. В других вариантах осуществления такие термины относятся к уменьшению высвобождения медиаторов воспаления тучными клетками или уменьшению биологического эффекта таких медиаторов воспаления. В других вариантах осуществления такие термины относятся к уменьшению роста, образования и/или повышения числа гиперпролиферирующих клеток (например, раковых клеток). В еще нескольких других вариантах осуществления такие термины относятся к уменьшению воспаления дыхательных путей, кожи, желудочно-кишечного тракта или их комбинаций. В еще одних вариантах осуществления такие термины относятся к ослаблению симптомов, ассоциированных с астмой. В некоторых вариантах осуществления такие термины относятся к ослаблению симптомов, ассоциированных с хроническим обструктивным заболеванием легких (COPD).

[00111] Состав на основе антител согласно настоящему изобретению можно вводить субъекту различными способами. В некоторых вариантах осуществления состав на основе антител подходит для парентерального введения, например, посредством ингаляции (например, в виде порошкового или аэрозольного спрея), чресслизистого,

внутривенного, подкожного или внутримышечного введения. В некоторых вариантах осуществления состав представляет собой инъекционный состав. В некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение относится к герметичному контейнеру, содержащему любой из описанных в данном документе составов на основе антител.

5 [00112] В некоторых аспектах настоящее изобретение относится к различным фармацевтическим лекарственным формам. Различные лекарственные формы могут быть применимы к составам, представленным в данном документе. См, например, Pharmaceutical Dosage Form: Parenteral Medications, Volume 1, 2nd Edition. В одном варианте осуществления фармацевтическая стандартная доза согласно настоящему изобретению содержит состав на основе антител в подходящем контейнере, например, флаконе или шприце. В одном варианте осуществления фармацевтическая стандартная доза согласно настоящему изобретению содержит состав на основе антител, доставляемый внутривенно, подкожно или внутримышечно. В другом варианте осуществления фармацевтическая стандартная доза согласно настоящему изобретению содержит состав на основе антител, доставляемый в виде аэрозоля. В конкретном варианте осуществления фармацевтическая стандартная доза согласно настоящему изобретению содержит состав на основе антител, доставляемый подкожно. В другом варианте осуществления фармацевтическая стандартная доза согласно настоящему изобретению содержит состав на основе антител, доставляемый в виде аэрозоля. В дополнительном варианте осуществления фармацевтическая стандартная доза согласно настоящему изобретению содержит состав на основе антител, вводимый интраназально.

10 [00113] Составы на основе антител согласно настоящему изобретению можно получить в виде стандартных лекарственных форм путем получения флаконов, содержащих аликовоту водного состава на основе антител, для однократного применения. 15 Например, стандартная доза на один флакон может содержать 1 мл, 2 мл, 3 мл, 4 мл, 5 мл, 6 мл, 7 мл, 8 мл, 9 мл, 10 мл, 15 мл или 20 мл антитела, которое специфично связывается с рецептором IL5, в разных концентрациях, варьирующих в диапазоне от приблизительно 0,1 мг/мл до приблизительно 300 мг/мл. При необходимости эти 20 препараты можно довести до требуемой концентрации, добавляя стерильный разбавитель в каждый флакон. В конкретном варианте осуществления водные составы 25 на основе антител согласно настоящему изобретению составляют в однодозовых флаконах в виде стерильной жидкости, которая содержит от приблизительно 2 мг/мл до приблизительно 20 мг/мл антитела, где антитело содержит вариабельную область тяжелой цепи и вариабельную область легкой цепи, где вариабельная область тяжелой 30 цепи содержит определенные по Kabat последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 с SEQ ID NO: 5-7, и где вариабельная область легкой цепи содержит определенные по Kabat последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 с SEQ ID NO: 8-10, от приблизительно 0,002% до приблизительно 0,01% полисорбата-20, от приблизительно 40 мМ до приблизительно 60 мМ трегалозы и от приблизительно 110 мМ до приблизительно 150 мМ L-аргинина. 35 40 В другом конкретном варианте осуществления водные составы на основе антител согласно настоящему изобретению составляют в однодозовых флаконах в виде стерильной жидкости, которая содержит от приблизительно 20 мг/мл до приблизительно 100 мг/мл антитела, где антитело содержит вариабельную область тяжелой цепи и вариабельную область легкой цепи, где вариабельная область тяжелой цепи содержит определенные по Kabat последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 с SEQ ID NO: 5-7, и где вариабельная область легкой цепи содержит определенные по Kabat 45 последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 с SEQ ID NO: 8-10, от приблизительно 0,002% до приблизительно 0,01% полисорбата-20 и от приблизительно 200 мМ до

приблизительно 300 мМ трегалозы. В одном варианте осуществления антитело согласно настоящему изобретению поставляется во флаконах из янтарного боросиликатного стекла USP типа I (West Pharmaceutical Services-№ по каталогу 6800-0675) на 3 см³ в концентрации от 2 до 20 мг/мл. В другом варианте осуществления антитело согласно настоящему изобретению поставляется во флаконах из янтарного боросиликатного стекла USP типа I на 3 см³ в концентрации от 20 до 100 мг/мл. Целевой номинальный объем составляет 1,2 мл.

[00114] Составы на основе антител согласно настоящему изобретению можно получить в виде стандартных лекарственных форм путем получения предварительно заполненного шприца, содержащего аликвоту водного состава на основе антител, для однократного применения. Например, стандартная доза на один предварительно заполненный шприц может содержать 0,1-мл, 0,2-мл, 0,3-мл, 0,4-мл, 0,5-мл, 0,6-мл, 0,7-мл, 0,8-мл, 0,9-мл, 1-мл, 2-мл, 3-мл, 4-мл, 5-мл, 6-мл, 7-мл, 8-мл, 9-мл, 10-мл, 15-мл или 20-мл антитела, которое специфически связывается с полипептидом IL-5, в разных концентрациях, варьирующих в диапазоне от приблизительно 2 мг/мл до приблизительно 100 мг/мл. В конкретном варианте осуществления водные составы на основе антител согласно настоящему изобретению составляют в однодозовых предварительно заполненных шприцах в виде стерильной жидкости, которая содержит от приблизительно 2 мг/мл до приблизительно 20 мг/мл антитела, где антитело содержит вариабельную область тяжелой цепи и вариабельную область легкой цепи, где вариабельная область тяжелой цепи содержит определенные по Kabat последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 с SEQ ID NO: 5-7, и где вариабельная область легкой цепи содержит определенные по Kabat последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 с SEQ ID NO: 8-10, от приблизительно 0,002% до приблизительно 0,01% полисорбата-20, от приблизительно 40 мМ до приблизительно 60 мМ трегалозы и от приблизительно 110 мМ до приблизительно 150 мМ L-аргинина. В конкретном варианте осуществления водные составы на основе антител согласно настоящему изобретению составляют в однодозовых предварительно заполненных шприцах в виде стерильной жидкости, которая содержит от приблизительно 20 мг/мл до приблизительно 100 мг/мл антитела, где антитело содержит вариабельную область тяжелой цепи и вариабельную область легкой цепи, где вариабельная область тяжелой цепи содержит определенные по Kabat последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 с SEQ ID NO: 5-7, и где вариабельная область легкой цепи содержит определенные по Kabat последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 с SEQ ID NO: 8-10, от приблизительно 0,002% до приблизительно 0,01% полисорбата-20 и от приблизительно 200 мМ до приблизительно 300 мМ трегалозы.

[00115] В ходе однократного применения можно ввести различные величины дозы. Например, в некоторых вариантах осуществления 0,1 мг, 0,2 мг, 0,3 мг, 0,4 мг, 0,5 мг, 0,6 мг, 0,7 мг, 0,8 мг, 0,9 мг, 1,0 мг, 1,1 мг, 1,2 мг, 1,3 мг, 1,4 мг, 1,5 мг, 1,6 мг, 1,7 мг, 1,8 мг, 1,9 мг, 2 мг, 3 мг, 4 мг, 5 мг, 6 мг, 7 мг, 8 мг, 9 мг, 10 мг, 12 мг, 14 мг, 16 мг, 18 мг, 20 мг, 30 мг, 40 мг, 50 мг, 70 мг или 100 мг антитела можно вводить в виде однократной дозы.

[00116] Можно применять различные типы шприцев. Шприц можно заполнять составом на основе антител непосредственно перед введением субъекту, например, менее чем за 1 неделю, за 1 день, за 6 часов, за 3 часа, за 2 часа, за 1 час, за 30 минут, за 20 минут или за 10 минут перед введением субъекту. В некоторых вариантах осуществления шприц заполняют составом на основе антител в месте розничной продажи или в учреждении, где осуществляется лечение субъекта. В некоторых вариантах осуществления шприц является предварительно заполненным, например, шприц

заполняют составом на основе антител более чем за 1 день, за 2 дня, за 4 дня, за 1 неделю, за 2 недели, за 1 месяц, за 2 месяца, за 3 месяца, за 6 месяцев, за 12 месяцев, за 18 месяцев, за 24 месяца, за 3 года или за 4 года перед введением субъекту. В некоторых вариантах осуществления предварительно заполненный шприц содержит иглу, например, 5 иглу со стандартными стенками 27G, тонкостенную иглу 27G, иглу со стандартными стенками 29G или тонкостенную иглу 29G. В некоторых вариантах осуществления предварительно заполненный шприц содержит тонкостенную иглу 29G.

[00117] В некоторых вариантах осуществления можно применять любой шприц, подходящий для введения нужному субъекту. В некоторых вариантах осуществления 10 шприц представляет собой пластиковый шприц или стеклянный шприц. В некоторых вариантах осуществления шприц изготовлен из материалов, которые практически не содержат вольфрам. В некоторых вариантах осуществления шприц покрыт кремнийорганическим соединением. В некоторых вариантах осуществления предварительно заполненный шприц содержит поршень с диском из фторполимерной 15 смолы. Примеры шприцев могут включать, без ограничения, Нурак™ длинной конфигурации на 1 мл для биотехнологических препаратов (Becton Dickinson) с уплотнителем 4023 Flurotec Daikyo Si1000 для Нурак длинной конфигурации на 1 мл от Becton Dickinson (каталожный №-47271919), C3Pin (партия №-E912701), Нурак™ для биотехнологических препаратов с 0,8 мг кремнийорганического масла (Becton Dickinson) 20 и шприцы CZ (West, каталожный №-19550807).

[00118] Водные составы на основе антител согласно настоящему изобретению можно стерилизовать различными способами стерилизации, в том числе стерилизующей фильтрацией, излучением и т.д. В конкретном варианте осуществления подвергнутый 25 диафильтрации состав на основе антител подвергают стерилизующей фильтрации с помощью предварительно стерилизованного фильтра на 0,2 микрона. Стерилизованные составы на основе антител согласно настоящему изобретению можно вводить субъекту для предупреждения, лечения и/или контроля иммунной реакции, например, воспалительной реакции.

[00119] В некоторых вариантах осуществления предварительно заполненный шприц 30 содержит (а) от приблизительно 2 мг/мл до приблизительно 20 мг/мл антитела, где антитело содержит вариабельную область тяжелой цепи и вариабельную область легкой цепи, где вариабельная область тяжелой цепи содержит определенные по Kabat последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 с SEQ ID NO: 5-7, и где вариабельная область легкой цепи содержит определенные по Kabat последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 35 с SEQ ID NO: 8-10, и (б) от приблизительно 0,002% до приблизительно 0,01% полисорбата-20. В некоторых вариантах осуществления предварительно заполненный шприц дополнительно содержит (с) от приблизительно 40 мМ до приблизительно 60 мМ трегалозы и (д) от приблизительно 110 мМ до приблизительно 150 мМ L-аргинина. В некоторых вариантах осуществления предварительно заполненный шприц содержит 40 (а) от приблизительно 20 мг/мл до приблизительно 100 мг/мл антитела, где антитело содержит вариабельную область тяжелой цепи и вариабельную область легкой цепи, где вариабельная область тяжелой цепи содержит определенные по Kabat последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 с SEQ ID NO: 5-7, и где вариабельная область легкой цепи содержит определенные по Kabat последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 45 с SEQ ID NO: 8-10, и (б) от приблизительно 0,002% до приблизительно 0,01% полисорбата-20. В некоторых вариантах осуществления предварительно заполненный шприц дополнительно содержит (с) от приблизительно 200 мМ до приблизительно 300 мМ трегалозы.

[00120] В некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение относится к набору, содержащему любой из описанных в данном документе составов на основе антител, описанных в данном документе контейнеров, описанных в данном документе стандартных лекарственных форм или описанный в данном документе предварительно 5 заполненный шприц.

[00121] В некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение также может относиться к способу получения стабильного водного состава на основе антител, содержащего антитело, при этом способ включает: (a) очистку антитела до от

10 приблизительно 1 мг/мл до приблизительно 400 мг/мл, где антитело содержит вариабельную область тяжелой цепи и вариабельную область легкой цепи, где вариабельная область тяжелой цепи содержит определенные по Kabat последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 с SEQ ID NO: 5-7, и где вариабельная область легкой цепи содержит определенные по Kabat последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 с SEQ ID NO: 8-10; и (b) помещение выделенного антитела в стабилизирующий состав

15 с получением стабильного водного состава на основе антител, где полученный стабильный водный состав на основе антител содержит: (i) от приблизительно 2 мг/мл до приблизительно 100 мг/мл антитела, где антитело содержит вариабельную область тяжелой цепи и вариабельную область легкой цепи, где вариабельная область тяжелой цепи содержит определенные по Kabat последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 с SEQ

20 ID NO: 5-7, и где вариабельная область легкой цепи содержит определенные по Kabat последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 с SEQ ID NO: 8-10, и (ii) от приблизительно 0,002% до приблизительно 0,01% полисорбата-20. В некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение относится к способу получения стабильного водного состава на основе антител, при этом способ включает: (a) очистку антитела до от приблизительно

25 1 мг/мл до приблизительно 400 мг/мл, где антитело содержит вариабельную область тяжелой цепи и вариабельную область легкой цепи, где вариабельная область тяжелой цепи содержит определенные по Kabat последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 с SEQ ID NO: 5-7, и где вариабельная область легкой цепи содержит определенные по Kabat последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 с SEQ ID NO: 8-10; (b) разведение антитела

30 до от приблизительно 2 мг/мл до приблизительно 20 мг/мл антитела, где антитело содержит вариабельную область тяжелой цепи и вариабельную область легкой цепи, где вариабельная область тяжелой цепи содержит определенные по Kabat последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 с SEQ ID NO: 5-7, и где вариабельная область легкой цепи содержит определенные по Kabat последовательности CDR1, CDR2 и CDR3

35 с SEQ ID NO: 8-10, в растворе, содержащем: (i) от приблизительно 0,002% до приблизительно 0,01% полисорбата-20, (ii) от приблизительно 40 мМ до приблизительно 60 мМ трегалозы и (iii) от приблизительно 110 мМ до приблизительно 150 мМ L-аргинина. В некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение относится к способу получения стабильного водного состава на основе антител, при этом способ

40 включает: (a) очистку антитела до от приблизительно 1 мг/мл до приблизительно 400 мг/мл, где антитело содержит вариабельную область тяжелой цепи и вариабельную область легкой цепи, где вариабельная область тяжелой цепи содержит определенные по Kabat последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 с SEQ ID NO: 5-7, и где вариабельная область легкой цепи содержит определенные по Kabat последовательности CDR1, CDR2

45 и CDR3 с SEQ ID NO: 8-10; (b) разведение антитела до от приблизительно 20 мг/мл до приблизительно 100 мг/мл антитела, где антитело содержит вариабельную область тяжелой цепи и вариабельную область легкой цепи, где вариабельная область тяжелой цепи содержит определенные по Kabat последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 с SEQ

ID NO: 5-7, и где вариабельная область легкой цепи содержит определенные по Kabat последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 с SEQ ID NO: 8-10, в растворе, содержащем: (i) от приблизительно 0,002% до приблизительно 0,01% полисорбата-20, (ii) от приблизительно 200 мМ до приблизительно 300 мМ трегалозы и (iii) приблизительно 20 мМ гистидина.

[00122] Хотя многие аспекты настоящего изобретения относятся к водным составам, в целях определения эквивалентов следует отметить, что антитела или составы на основе антител согласно настоящему изобретению можно при необходимости лиофилизировать. Следовательно, настоящее изобретение охватывает лиофилизированные формы составов согласно настоящему изобретению или лиофилизированные антитела, которые затем восстанавливают до водной формы. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретение относится к способу получения восстановленного состава на основе антител, содержащих вариабельную область тяжелой цепи и вариабельную область легкой цепи, где вариабельная область тяжелой цепи содержит определенные по Kabat последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 с SEQ ID NO: 5-7, и где вариабельная область легкой цепи содержит определенные по Kabat последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 с SEQ ID NO: 8-10, при этом способ включает: (a) очистку антитела из культуры клеток; (b) лиофилизацию выделенного антитела; (c) добавление лиофилизированного антитела к водному раствору с получением восстановленного состава на основе антител, где восстановленный состав на основе антител содержит: (i) от приблизительно 2 мг/мл до приблизительно 100 мг/мл антитела, где антитело содержит вариабельную область тяжелой цепи и вариабельную область легкой цепи, где вариабельная область тяжелой цепи содержит определенные по Kabat последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 с SEQ ID NO: 5-7, и где вариабельная область легкой цепи содержит определенные по Kabat последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 с SEQ ID NO: 8-10, и (ii) от приблизительно 0,002% до приблизительно 0,01% полисорбата-20.

[00123] В некоторых вариантах осуществления авторы настоящего изобретения обнаружили, что в составах на основе антител к IL5R с пониженными концентрациями глутатион-S-трансферазы (GST) обуславливается снижение образования частиц (например, до невыявляемого). Удаление частиц имеет важное значение для избежания потенциальной иммуногенности, а также ограничения влияния на качество продукта. В некоторых вариантах осуществления концентрацию GST снижают с помощью аффинной хроматографии. В некоторых вариантах осуществления концентрацию GST снижают путем применения колонки с белком A. В некоторых вариантах осуществления колонка с белком A представляет собой MabSelect Sure (GE Healthcare Life Sciences). В некоторых вариантах осуществления концентрацию GST снижают с помощью хроматографии в смешанном режиме. В некоторых вариантах осуществления колонка для хроматографии в смешанном режиме представляет собой Capto™ Adhere (GE Healthcare Life Sciences).

[00124] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретение относится к составу на основе антител, содержащему антитело, где антитело содержит вариабельную область тяжелой цепи и вариабельную область легкой цепи, где вариабельная область тяжелой цепи содержит определенные по Kabat последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 с SEQ ID NO: 5-7, и где вариабельная область легкой цепи содержит определенные по Kabat последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 с SEQ ID NO: 8-10, при этом состав на основе антител фактически не содержит частиц. В некоторых вариантах осуществления термин “фактически не содержит частиц” относится к отсутствию видимых частиц при наблюдении на просмотровом столе. В некоторых вариантах

- осуществления термин "фактически не содержит частиц" является синонимом описанной ранее фразы "уровни образования частиц от низкого до невыявляемого". В некоторых вариантах осуществления "фактически не содержит частиц" относится к образцам, содержащим менее 30 частиц/мл, менее 20 частиц/мл, менее 20 частиц/мл, менее 15
- 5 частиц/мл, менее 10 частиц/мл, менее 5 частиц/мл, менее 2 частиц/мл или менее 1 частицы/мл, где частицы превышают 25-мкм, и количество частиц определяют с помощью анализа на НИАС или визуального анализа. В некоторых вариантах осуществления "фактически не содержит частиц" относится к образцам, содержащим 1-50-частиц/мл, 2-40-частиц/мл, 3-30-частиц/мл, 4-25-частиц/мл или 5-20-частиц/мл, где частицы
- 10 превышают 25-мкм, и количество частиц определяют с помощью анализа на НИАС или визуального анализа. В некоторых вариантах осуществления термин "видимые частицы" относится к частицам, превышающим 25 мкм.
- [00125] В некоторых вариантах осуществления "фактически не содержит частиц" относится к образцам, содержащим 1-200 частиц/мл, 10-150 частиц/мл, 30-100 частиц/мл или 40-80 частиц/мл, где частицы превышают 5-мкм, и количество частиц определяют с помощью анализа на НИАС или визуального анализа. В некоторых вариантах осуществления термин "видимые частицы" относится к частицам, превышающим 5 мкм. В некоторых вариантах осуществления в составе на основе антител не выявляют частицы с помощью анализа НИАС либо визуального анализа.
- 20 [00126] В некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение относится к составу на основе антител, содержащему антитело, где антитело содержит вариабельную область тяжелой цепи и вариабельную область легкой цепи, где вариабельная область тяжелой цепи содержит определенные по Kabat последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 с SEQ ID NO: 5-7, и где вариабельная область легкой цепи содержит определенные
- 25 по Kabat последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 с SEQ ID NO: 8-10, при этом состав на основе антител фактически не содержит глутатион-S-трансферазу (GST). Если не определено иное, термин "фактически не содержит глутатион-S-трансферазу" или "фактически не содержит GST" будет охватывать композицию, в которой отсутствует активная GST (но которая может содержать неактивную GST), а также композицию,
- 30 которая не содержит белок GST ни в активной форме, ни в неактивной форме. В некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение относится к составу на основе антител, содержащему антитело, где антитело содержит вариабельную область тяжелой цепи и вариабельную область легкой цепи, где вариабельная область тяжелой цепи содержит определенные по Kabat последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 с SEQ
- 35 ID NO: 5-7, и где вариабельная область легкой цепи содержит определенные по Kabat последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 с SEQ ID NO: 8-10, при этом состав на основе антител фактически не содержит активную GST. Термин "активная GST" относится к GST, способной катализировать образование связи тиольной группы глутатиона (GSH) с электрофильным соединением, таким как 1-хлор-2,4-динитробензол (CDNB), для
- 40 образования конъюгата GS-DNB. GST или глутатион-S-трансфераза относится к семейству ферментов, которые способны катализировать многочисленные реакции, но, главным образом, конъюгирование восстановленного глутатиона через сульфгидрильную группу с электрофильными центрами, например, ароматическими веществами, двойными связями, C-Cl_x и т.д. Мономеры GST, как правило, находятся
- 45 в диапазоне 22-29 кДа, но они могут встречаться в виде димеров, тримеров, а также гетеродимеров (с другими белками). В некоторых вариантах осуществления термин "GST" относится к белку, способному катализировать образование связи тиольной группы глутатиона (GSH) с 1-хлор-2,4-динитробензолом (CDNB) для образования

конъюгата GS-DNB.

[00127] В некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение относится к составу на основе антител, содержащему антитело, где антитело содержит вариабельную область тяжелой цепи и вариабельную область легкой цепи, где вариабельная область

5 тяжелой цепи содержит определенные по Kabat последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 с SEQ ID NO: 5-7, и где вариабельная область легкой цепи содержит определенные по Kabat последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 с SEQ ID NO: 8-10, при этом состав на основе антител фактически не содержит частиц в течение по меньшей мере 1 месяца, по меньшей мере 2 месяцев, по меньшей мере 3 месяцев, по меньшей мере 4 месяцев, по 10 меньшей мере 5 месяцев, по меньшей мере 6 месяцев, по меньшей мере 8 месяцев, по меньшей мере 10 месяцев, по меньшей мере 12 месяцев или по меньшей мере 18 месяцев при хранении при 38-42°C. В некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение относится к составу на основе антител, содержащему антитело, где антитело содержит вариабельную область тяжелой цепи и вариабельную область легкой цепи, где 15 вариабельная область тяжелой цепи содержит определенные по Kabat последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 с SEQ ID NO: 5-7, и где вариабельная область легкой цепи содержит определенные по Kabat последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 с SEQ ID NO: 8-10, при этом состав на основе антител фактически не содержит частиц в течение по меньшей мере 1 месяца, по меньшей мере 2 месяцев, по меньшей мере 3 20 месяцев, по меньшей мере 4 месяцев, по меньшей мере 5 месяцев, по меньшей мере 6 месяцев, по меньшей мере 8 месяцев, по меньшей мере 10 месяцев, по меньшей мере 12 месяцев, по меньшей мере 18 месяцев, по меньшей мере 24 месяцев, по меньшей мере 30 месяцев, по меньшей мере 36 месяцев или по меньшей мере 48 месяцев при хранении 25 при 2-6°C.

[00128] В некоторых вариантах осуществления состав на основе антител фактически не содержит GST. В некоторых вариантах осуществления термин “фактически не содержит GST” относится к составу на основе антител, характеризующемуся активностью GST, составляющей менее чем приблизительно 0,5 единиц/мг антитела, менее чем приблизительно 0,3 единиц/мг антитела, менее чем приблизительно 0,1 единиц/30 мг антитела, менее чем приблизительно 0,08 единиц/мг антитела, менее чем приблизительно 0,05 единиц/мг антитела, менее чем приблизительно 0,03 единиц/мг антитела, менее чем приблизительно 0,01 единиц/мг антитела, менее чем приблизительно 0,005 единиц/мг антитела, менее чем приблизительно 0,001 единиц/мг антитела, менее 35 чем приблизительно 5×10^{-3} единиц/мг антитела, менее чем приблизительно 1×10^{-4} единиц/мг антитела, менее чем приблизительно 1×10^{-5} единиц/мг антитела или менее чем приблизительно 1×10^{-6} единиц/мг антитела. В некоторых вариантах осуществления термин “фактически не содержит” относится к уровню GST, не выявляемому с помощью 40 обычных методик для выявления GST.

[00129] Специалистам в данной области известны различные способы для определения активности GST. В некоторых вариантах осуществления активность GST определяют с помощью набора для флуориметрического анализа глутатиона (GSH/GSSG/общего) (BioVision, Сан-Франциско, Калифорния).

[00130] В некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение относится к 45 способу очистки антитела, содержащего вариабельную область тяжелой цепи и вариабельную область легкой цепи, где вариабельная область тяжелой цепи содержит определенные по Kabat последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 с SEQ ID NO: 5-7, и где вариабельная область легкой цепи содержит определенные по Kabat

последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 с SEQ ID NO: 8-10, при этом способ включает (i) получение культуры клеток, содержащей антитело, (ii) проведение аффинной хроматографии антитела, (iv) проведение катионного обмена с антителом, (v) проведение хроматографии антитела в смешанном режиме. В некоторых вариантах осуществления 5 настоящее изобретение относится к способу очистки антитела, где антитело содержит вариабельную область тяжелой цепи и вариабельную область легкой цепи, где вариабельная область тяжелой цепи содержит определенные по Kabat последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 10 с SEQ ID NO: 5-7, и где вариабельная область легкой цепи содержит определенные по Kabat последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 с SEQ ID NO: 8-10, при этом способ включает (i) получение культуры клеток, содержащей антитело, (ii) связывание антитела с белком А в колонке, (iii) элюирование антитела из колонки с белком А, (iv) проведение катионного обмена с антителом, (v) проведение хроматографии антитела в смешанном режиме. В некоторых вариантах осуществления 15 способ очистки антитела дополнительно включает способ инактивации вирусов. В некоторых вариантах осуществления стадию инактивации вирусов проводят путем понижения pH до уровня менее 4,0. В некоторых вариантах осуществления способ дополнительно включает способ диафильтрации. В некоторых вариантах осуществления способ дополнительно включает способ фильтрации. В некоторых вариантах осуществления 20 способ фильтрации является достаточным для удаления активных вирусных частиц.

[00131] В некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение относится к способу лечения пациента. В некоторых вариантах осуществления способ включает введение описанных в данном документе составов на основе антител, описанных в данном документе контейнеров, описанных в данном документе стандартных 25 лекарственных форм или описанного в данном документе предварительно заполненного шприца субъекту, нуждающемуся в этом.

[00132] В некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение подходит для лечения легочного заболевания или нарушения с помощью введения описанного в данном документе состава на основе антител. В некоторых вариантах осуществления 30 настоящее изобретение относится к способу лечения пациента с эозинофильным заболеванием или нарушением с помощью введения описанного в данном документе состава на основе антител. В некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение относится к способу лечения легочного заболевания или нарушения у субъекта, при этом способ включает введение описанных в данном документе составов 35 на основе антител. В некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение относится к способу лечения эозинофильного заболевания или нарушения у субъекта, при этом способ включает введение описанных в данном документе составов на основе антител. В некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение относится к лечению легочных заболеваний или нарушений, например, астмы, COPD, эозинофильной 40 астмы, смешанной эозинофильно-нейтрофильной астмы, аспириновой астмы, аллергического бронхолегочного аспергиллеза, острого и хронического эозинофильного бронхита, острой и хронической эозинофильной пневмонии, синдрома Черджа-Страсса, гиперэозинофильного синдрома, легочной эозинофилии, вызванной лекарственными 45 средствами, раздражающими средствами и облучением, легочной эозинофилии, вызванной инфекцией (грибковой, туберкулезной, паразитарной), легочной эозинофилии, ассоциированной с аутоиммунным заболеванием, эозинофильного эзофагита или болезни Крона или их комбинации, у субъекта, при этом способ включает введение описанных в данном документе составов на основе антител. В некоторых вариантах

осуществления настоящее изобретение относится к лечению астмы у субъекта, при этом способ включает введение описанных в данном документе составов на основе антител. В некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение относится к лечению COPD у субъекта, при этом способ включает введение описанных в данном документе 5 составов на основе антител.

[00133] В некоторых вариантах осуществления для лечения состояния вводят терапевтически эффективное количество описанных в данном документе составов на основе антител. Используемый в данном документе термин "терапевтически эффективное количество" относится к количеству терапевтического средства (например, антитела, 10 которое иммуноспецифично связывается с полипептидным рецептором IL-5), которое является достаточным для снижения тяжести заболевания или нарушения (например, заболевания или нарушения, характеризующегося аномальной экспрессией и/или активностью полипептида IL-5, заболевания или нарушения, характеризующегося аномальной экспрессией и/или активностью рецептора IL-5 или одной или нескольких 15 его субъединиц, аутоиммунного заболевания, воспалительного заболевания, пролиферативного заболевания или инфекции (предпочтительно респираторной инфекции) или одного или нескольких их симптомов), уменьшения продолжительности респираторного состояния, ослабления одного или нескольких симптомов такого заболевания или нарушения, предупреждения развития такого заболевания или 20 нарушения, вызывания регрессии такого заболевания или нарушения или усиления или улучшения терапевтического(терапевтических) эффекта(эффектов) другого терапевтического средства. В некоторых вариантах осуществления терапевтически эффективное количество нельзя точно указать заранее, и оно может быть определено лицом, осуществляющим уход и лечение, например, врачом или другим медицинским 25 работником, с использованием различных способов, например, подбора дозы. Соответствующие терапевтически эффективные количества также можно определить путем проведения обычных экспериментов с использованием, например, животных моделей.

[00134] Термины "терапевтические средства" и "терапия" могут относиться к любому

30 из протоколов, способов и/или средств, которые можно применять в предупреждении, лечении, контроле или ослаблении заболевания или нарушения (например, заболевания или нарушения, характеризующегося аномальной экспрессией и/или активностью полипептида IL-5, заболевания или нарушения, характеризующегося аномальной экспрессией и/или активностью рецептора IL-5 или одной или нескольких его субъединиц, 35 аутоиммунного заболевания, воспалительного заболевания, пролиферативного заболевания или инфекции (предпочтительно респираторной инфекции) или одного или нескольких их симптомов). В определенных вариантах осуществления термины "терапия" и "терапия" относятся к биологической терапии, поддерживающей терапии и/или другим видам терапии, применимым в лечении, контроле, предупреждении или 40 ослаблении такого заболевания или нарушения или одного или нескольких симптомов, известных квалифицированному медицинскому персоналу.

[00135] Используемый в данном документе термин "терапевтический протокол" относится к схеме дозирования и регулированию времени назначения одного или нескольких видов терапии (например, терапевтических средств), которые являются 45 терапевтически эффективными.

[00136] Путь введения состава на основе антител согласно настоящему изобретению может представлять собой введение посредством, например, перорального, парентерального, ингаляционного или местного способов. Используемый в данном

документе термин "парентеральное" включает, например, внутривенное, внутриартериальное, внутрибрюшинное, внутримышечное, подкожное, ректальное или вагинальное введение. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой антитело к IL5R, а путь введения представляет собой внутримышечную инъекцию.

5 Хотя все эти формы введения явно рассматриваются как находящиеся в пределах объема настоящего изобретения, в некоторых вариантах осуществления состав на основе антител подходит для введения посредством инъекции, в частности, для внутривенной или внутриартериальной инъекции или капельного вливания.

[00137] В некоторых вариантах осуществления композиции и способы согласно 10 настоящему изобретению дают производителю возможность получать состав на основе антител, подходящий для введения человеку, более эффективным образом путем чего-либо из сокращения затрат, сокращения количества стадий способа, уменьшения возможностей ошибки, уменьшения возможностей введения небезопасных или ненадлежащих добавок, сокращения отходов, увеличения срока хранения и т.д.

15 **ПРИМЕРЫ**

Пример 1

[00138] Исследования состава осуществляли для разработки стабильного состава на основе антител к IL5R, который является подходящим для доставки дозы 2-100 мг посредством подкожной доставки из предварительно заполненного шприца (или 20 флакона в резервной конфигурации). Конкретно, разрабатывали два состава с разными концентрациями антител, состав с 2-20 мг/мл и состав с 20-100 мг/мл.

1. Материалы и способы

a. Источник антитела к IL5R и получение составов

[00139] Несколько партий антител к IL5R применяли в данных исследованиях. Все 25 партии получали в различных масштабах в MedImmune и доставляли после диафильтрации и концентрирования до приблизительно 130 г/л в 20 мМ буфера гистидин/гистидин-HCl при pH 6. Некоторые партии также содержали 250 мМ трегалозы в буфере для диафильтрации.

[00140] Антитело к IL5R составляли путем добавления в буфер, дополненный 30 вспомогательными веществами (EAB), для достижения концентрации антитела к IL5R 100 г/л и подходящих концентраций молекул буферного вещества и вспомогательных веществ. Более низкие концентрации лекарственных субстанций получали из состава при 100 г/л.

2. Способы ускоренного стрессового испытания

35 a. Хранение при повышенной температуре

[00141] Флаконы и шприцы хранили в контролируемых климатических камерах для поддержания постоянной температуры во время хранения. Камеры поддерживали при 2-8°C, 23-27°C/60%RH или 38-42°C/75%RH, но в дальнейшем 5°C, 25°C или 40°C будут относится к их температурам в средней точке. Флаконы хранили в вертикальном 40 положении, если не указано иное, а предварительно заполненные шприцы хранили кончиком вниз.

b. Циклы замораживания-размораживания

[00142] В данных исследованиях применяли циклы как контролируемого, так и 45 неконтролируемого замораживания-размораживания. Неконтролируемое замораживание-размораживание осуществляли путем замораживания флаконов в камере при -40°C и их размораживания при комнатной температуре.

c. Транспортировка и встряхивание

[00143] Разнообразные способы применяли для изучения эффекта транспортировки

в отношении антитела к IL5R. Встряхивание флаконов на столе осуществляли путем орбитального встряхивания при 150 об./мин. в течение 24 часов. Фактическую транспортировку имитировали путем перевозки продукта во внешнее местоположение. Продукт совершил две круговых поездки и подвергался наземной и воздушной

5 транспортировке в течение 4 дней. Комбинацию замороженных и охлажденных пакетов применяли для поддержания температуры продукта при 2-8°C, и ее отслеживали с помощью датчиков, которые указывали температуры ниже 0°C или выше 9°C.

[00144] Для скрининговых исследований транспортировку моделировали, применяя вибрационный стенд (симулятор транспортировки). Продукт подвергался “воздушной” 10 и “наземной” транспортировке сходным образом по сравнению с тем, что он испытывал при перевозке по типу круговой поездки. Процесс занимал 12 часов, и температуру снова регулировали с помощью охлажденных пакетов до 2-8°C; датчики не применяли. Горизонтальную ориентацию выбирали как ориентацию в наихудшем случае во время 15 действительной или моделируемой перевозки вследствие потенциального перемещения пузырьков и потенциального контакта лекарственного средства со всем цилиндром, кончиком иглы и пробкой.

3. Экспериментальные способы

A. Способы, соответствующие SOP или проистекающие из нее

[00145] Визуальный контроль выполняли с помощью сравнения со стандартами 20 частиц и опалесценции. Агрегацию и фрагментацию отслеживали с помощью SE-HPLC. Для концентраций антитела к IL5R ниже 10 г/л применяли большие объемы инъекций для достижения сходной общей массы белка на каждую инъекцию. Некоторые образцы также применяли для измерений в ходе cIEF и RP-HPLC для отслеживания фрагментации.

b. Концентрация белка

[00146] Концентрацию белка измеряли путем разведения белка с помощью серийного разведения по массе до примерно 0,5 г/л и измерения поглощения при 280 нм. Концентрацию рассчитывали из коэффициента экстинкции и коэффициента разведения, и для исходных концентраций выше 50 г/л вносили поправку на эффект плотности в отношении разведения по массе.

30 C. Определение количества невидимых невооруженным глазом частиц

[00147] Определение количества невидимых невооруженным глазом частиц проводили с применением как MFI, так и NIAC. Для MFI 0,9 мл раствора прогоняли неразбавленным после того, как проводили оптическое освещение с водой. Первые 0,2 мл применяли для очищения системы и не включали в анализ. Применяли фильтр по 35 характеристическому отношению <0,85 для исключения сферических пузырьков воздуха или капель кремнийорганического масла. Для NIAC растворы с концентрацией > 5 г/л разводили до примерно 5 г/л, при этом разведенные образцы прогоняли неразбавленными. Разведение осуществляли в вытяжном шкафу с ламинарным потоком с 20 мМ буфера гистидин/гистидин-HCl с pH 6, который фильтровали непосредственно 40 перед применением. Образцы дегазировали в вакууме по меньшей мере 30 минут перед исследованием. Среднее значение трех прогонов умножали на коэффициент разведения для получения окончательного результата. Капли кремнийорганического масла не отличали от частиц белка с помощью NIAC.

4. Данные и обсуждение

45 A. Подбор концентрации полисорбата-20

[00148] Первой целью была оптимизация концентрации PS-20 в водном составе на основе антител. Полисорбат включали в растворы для защиты белка от денатурации и агрегации на поверхностях раздела, и ожидали, что необходимая концентрация в

жидком продукте будет отличаться от таковой в лиофилизированном. С основными видами стресса на поверхности раздела сталкивались во время замораживания-размораживания и транспортировки, так что план эксперимента был ориентирован на их имитацию. Предшествующий опыт указывает на то, что было достаточно 0,02%

5 полисорбата-20 для того, чтобы обеспечить полную защиту от обоих этих видов стресса (данные не показаны). В качестве подтверждения, эти виды стресса комбинировали последовательно в порядке, ожидаемом для клинического производства, и после стресса добавляли период инкубации, способствуя росту любых потенциальных частиц. Сперва лекарственная субстанция подвергалась трем неконтролируемым циклам

10 замораживания-размораживания, и материал фильтровали и заливали во флаконы. Затем его встраивали на столе и инкубировали в течение одной недели при 40°C перед исследованием с помощью SE-HPLC и MFI. Исследуемыми условиями были крайние значения диапазона концентраций, 2 и 100 г/л, при составлении в 240 mM трегалозы, 20 mM буфера гистидин/гистидин-HCl, pH 6, с уровнем PS-20, варьирующим от 0 до 15 0,03% вес/объем. Результаты приведены на фиг. 2, 3 и 4.

[00149] Данные о доле мономеров указывали на то, что раствор при 2 г/л оставался чистым независимо от уровня полисорбата, но что низкие количества полисорбата-20, ниже чем примерно 0,005%, обуславливали незначительную степень агрегации при 100 г/л, однако эти результаты сами по себе не указывают на "порог допустимости".

20 Используемые виды стресса были тяжелыми, а уровень разрушения минимальным, поэтому любой уровень исследуемого PS-20 мог быть достаточным для защиты от возможного образования агрегатов, выявляемого с помощью SEC. Значения количества невидимых невооруженным глазом частиц были достаточно высокими при 2 г/л и не контролировались с помощью полисорбата-20 в исследуемом диапазоне. Высокие 25 значения количества невидимых невооруженным глазом частиц при 100 г/л контролировались в присутствии 0,003% или более PS-20. В совокупности эти данные указывают на то, что уровни PS-20 должны поддерживаться соответствующими или превышающими 0,003%.

[00150] Альтернативные способы контроля невидимых невооруженным глазом частиц были необходимыми для растворов с низкими концентрациями, как обсуждается ниже.

В. Подбор pH

[00151] Эффект pH раствора исследовали в растворах при 2, 20 и 100 г/л со значениями pH от 5 до 7,5. Остальные составы были неизменными и содержали 240 mM трегалозы, 35 20 mM буфера гистидин/гистидин-HCl и 0,02% PS-20. Растворы получали и хранили при 40°C в течение одного месяца перед исследованием. Для всех образцов оценивали потерю мономеров с помощью SE-HPLC, образование невидимых невооруженным глазом частиц с помощью MFI и видимых частиц с помощью визуального контроля. В отношении образцов при 100 г/л проводили дополнительное исследование, включающее 40 RP-HPLC и cIEF. Результаты представлены на фиг. 5 и 6.

[00152] Агрегация и фрагментация были сведены к минимуму в диапазоне pH 5,5-6,5. Результаты cIEF не соответствовали эталонному стандарту при pH 7,0 и выше. Значения количества невидимых невооруженным глазом частиц были низкими либо не проявляли какой-либо характер зависимости от pH раствора. Баллы для видимых частиц были 45 более высокими от pH 5,5-6,5. Несмотря на то, что эти баллы были высокими, образцы изучали близко к свету, где обычно видно большее количество частиц. Возможно, что исходный материал также способствовал высокому уровню частиц, так как это был материал, который характеризовался уровнями HCP, снижаемыми путем

дополнительной очистки на белке А. Это исследование указало на то, что оптимальное значение pH для возможного образования частиц будет составлять pH 5 или pH \geq 7. Однако, поскольку было понятно, что баллы для видимых частиц являются в данном исследовании завышенными, в результате этого исследования pH не меняли с pH 6,0.

5. с. Эффект перевозки

[00153] Необходимо, чтобы составы были устойчивыми к перевозке, поэтому их исследовали при различных концентрациях белка и PS-20 в предварительно заполненных шприцах. Составы варьировали от 2 до 100 г/л антитела к IL5R и от 0 до 0,05% PS-20, при этом другие условия были неизменными при 240 mM трегалозы, 20 mM буфера гистидин/гистидин-HCl, pH 6. Ряд других условий исследовали при 2 г/л, в том числе наличие глицина, хлорида кальция, pH 5,5, pH 6,5 и 0,02% полисорбата-80. Ни для одного из этих условий не было показано улучшения по сравнению с составом с трегалозой при pH 6 с полисорбатом-20, так что они не обсуждаются дальше.

[00154] Одним мл образца заполняли платформенный PFS с 0,4 mg

15 кремнийорганического масла. Образцы перевозили, хранили при 5°C, 25°C и 40°C и исследовали в течение двух месяцев с помощью визуального контроля, MFI и HIAC. Результаты представлены на фиг. 7.

[00155] На диаграмме показаны значения количества невидимых невооруженным глазом частиц по результатам определения с помощью MFI через 1 месяц хранения при 25°C. Значения количества невидимых невооруженным глазом частиц по результатам определения на HIAC или после хранения при других температурах демонстрировали тенденции, сходные с таковыми для показанного набора данных. В ходе визуального контроля ни для каких образцов, за исключением содержащих хлорид кальция, не отмечали высокие количества невидимых невооруженным глазом частиц. Растворы с высокой концентрацией белка (\geq 20 г/л) были устойчивыми к перевозке, поскольку в них присутствовало некоторое количество PS-20. Таким образом, состав с трегалозой применяли в исследованиях долговременной стабильности раствора при 20-100 г/л.

[00156] По данным после перевозки было подтверждено, что составы с низкими концентрациями не были устойчивыми, что наблюдали по высоким и крайне изменчивым значениям количества невидимых невооруженным глазом частиц. Также данные показывали, что задача не решалась только с помощью полисорбата, и поэтому для растворов с низкими концентрациями необходимо было изменить состав.

d. Изменение состава растворов с низкой концентрацией DS

[00157] В ходе скрининга для изменения состава растворы с низкой концентрацией подвергали стрессу путем моделируемой транспортировки и исследовали с помощью MFI. Показанные значения количества невидимых невооруженным глазом частиц соответствовали частицам >10 мкм, отфильтрованным по характеристическому отношению; при этом тенденции для других размеров частиц были сходными.

[00158] В ходе производства получают и замораживают несоставленную лекарственную субстанцию (UDS) в высоких концентрациях (\geq 100 г/л), содержащую трегалозу. Хранение этого высококонцентрированного промежуточного продукта необходимо для обеспечения разведения с получением различных составов в диапазоне состава 2-100 мг/мл. Разведение из UDS приведет к образованию некоторого количества остаточной трегалозы; в целях однородности композиции для всего диапазона низких доз будет применяться одна концентрация трегалозы. Буфер и pH не меняли.

[00159] Первый скрининг применяли для определения минимальной концентрации белка, где состав с трегалозой был стабильным, и для определения эффекта увеличения ионной силы с помощью составления в 150 mM трегалозы с 75 mM аргинина-HCl или

хлорида натрия. Показанные ниже результаты указывают на то, что белок в концентрациях ≥ 10 г/л был стабильным, но в целях устойчивости был установлен диапазон низких концентраций 2-20 г/л. Увеличение ионной силы приводило к получению более стабильных растворов применительно к обоим вспомогательным веществам.

5 См, например, фиг. 8.

[00160] Следующие исследования были ориентированы на оптимизацию концентраций аргинина или NaCl; концентрация белка 2 г/л применялась в качестве наихудшего случая для всех исследований. Для каждого вспомогательного вещества проводили широкий и узкий подбор концентрации вспомогательного вещества при 0,02% PS-20.

10 Первоначальный подбор концентрации аргинина проводили с различными количествами трегалозы, где растворы получали с помощью объединения 270 мМ аргинина с 250 мМ трегалозы. Целью было поддержание осмоляльности, но расчет был сделан неправильно (аргинин-HCl является бивалентным), так что растворы, содержащие аргинин, являлись гиперосмотическими. Остальные процедуры подбора концентрации 15 вспомогательного вещества проводили с неизменной концентрацией трегалозы 40 или 50 мМ, исходя из остаточной трегалозы при 20 г/л после разведения из исходного раствора при 100 г/л. Результаты представлены на фиг. 9 и 10.

20 [00161] Результаты процедур широкого подбора концентраций аргинина и NaCl указывают на то, что для получения стабильного состава концентрация должна превышать 50 мМ аргинина или 75 мМ NaCl. Процедуры узкого подбора концентраций 75-150 мМ аргинина или 100-200 мМ NaCl обуславливали низкие значения количества частиц во всем диапазоне. Это указывает на то, что концентрация в середине этих диапазонов должна обеспечивать получение устойчивого состава; выбирали 130 мМ как изоосмотическую в комбинации с 50 мМ остаточной трегалозы.

25 [00162] Оптимизацию концентрации PS-20 проверяли для новых составов, применяя тот же способ. Эти эксперименты проводили одновременно с операциями узкого подбора концентрации вспомогательного вещества, так что применяли концентрацию в средней точке. Исследуемыми условиями были 0,01-0,1% PS-20, 115 мМ аргинина-HCl, 40 мМ трегалозы и 0,01-0,05% PS-20, 150 мМ NaCl, 50 мМ трегалозы. Несколько 30 образцов исследовали с 0,02% PS-80, но в результате получили более высокие значения количества частиц, чем соответствующий результат для PS-20 (данные не показаны). Значения количества частиц были низкими для всех исследуемых уровней полисорбата, что указывало на то, что в новых составах нет необходимости изменять уровень с 0,02%. См, например, фиг. 11.

35 [00163] Результаты изменения состава для низких концентраций антитела к IL5R указывали на то, что аргинин либо NaCl были способными стабилизировать состав на короткий промежуток времени. Рассмотренные составы представляли собой 130 мМ аргинина-HCl или 130 мМ NaCl с 50 мМ трегалозы, 20 мМ буфера гистидин/гистидин-HCl, 0,02% PS-20, pH 6 для концентраций белка 2-20 г/л.

40 **е. Особенности флакона и PFS**

[00164] Три состава, разработанные выше (20-100 мг/мл в трегалозе, 2-20 мг/мл в трегалозе/аргинине и 2-20 мг/мл в трегалозе/NaCl) были подходящими для конфигураций как флакона, так и PFS. Конфигурация флакона представляла собой флакон Schott на 3 см³ с пробкой 4432/50 West. Наивысший риск относительно конфигурации флакона 45 представлял собой уровень кремнийорганического масла на пробках, так что с пробками, которые имели более высокий уровень кремнийорганического масла (0,039 мг/см²), чем те, которые обычно применяются (0,007-0,024 мг/см²), проводили исследования долговременной стабильности.

[00165] Исследуемый шприц с составом антитела к IL5R представлял собой платформенный шприц PFS BD длинной конфигурации на 1 мл со срезанным фланцем, несъемной тонкостенной иглой 29G, содержащим 0,4 мг Si-масла и закрытым твердым защитным колпачком BD260 (№ 47363119 по каталогу).

5 f. Исследования долговременной стабильности

Два исследования долговременной стабильности проводили для подтверждения решений, принятых в ходе скрининговых исследований. В исследовании стабильности № 1 изучали долговременную стабильность трегалозы и аргинина/трегалозы в PFS и флаконах. Кроме того, делали сравнения PFS, которые не будут обсуждаться в данном 10 документе. Начинали исследование стабильности № 2 для получения данных из другой партии материала для конфигураций, рассматриваемых в исследовании № 1, а также для изучения интервала значений для состава с NaCl/трегалозой и влияния номинального объема от ½ мл до 1 мл в PFS и флаконах.

i. Исследование стабильности № 1. Стабильность антитела к IL5R, представленного 15 в PFS

[00166] Исследования стабильности проводили в шприцах с использованием флаконов в качестве контроля. Каждую конечную точку интервалов значений для состава исследовали в каждом первичном контейнере. Исследуемый шприц представляет собой платформу Нурак™ для биотехнологических препаратов; это стеклянный шприц BD 20 длинной конфигурации на 1 мл, практически не содержащий вольфрама, с тонкостенной иглой 29G и 0,4 мг кремнийорганического масла. Применяемые флаконы представляли собой флаконы Schott на 3 см³ с пробками West 4423/50 и дополнительными укупорочными средствами.

[00167] Заполняющие составы являются следующими:

25 2 и 20 мг/мл антитела к IL5R, 125 мМ аргинина-HCl, 50 мМ трегалозы, 20 мМ буфера гистидин/гистидин-HCl, 0,02% PS-20, pH 6; и

20 и 100 мг/мл антитела к IL5R, 250 мМ трегалозы, 20 мМ буфера гистидин/гистидин-HCl, 0,02% PS-20, pH 6.

A. Чистота антитела к IL5R, представленного в предварительно заполненном шприце

30 [00168] Значительный эффект первичного контейнера в отношении потери мономеров для любых составов отсутствовал. Наблюдали некоторое влияние концентрации белка, но скорость потери мономеров была неизменно низкой. См. фиг. 12А.

B. Анализы частиц антитела к IL5R, представленного в предварительно заполненном шприце

35 Считается, что образование частиц является основным путем разрушения антитела к IL5R, так что оно, как считают, играет важную роль в определении подходящего PFS. Измерение количества невидимых невооруженным глазом частиц с помощью НИАС показывает увеличение числа частиц в PFS, что, вероятно, обусловлено каплями кремнийорганического масла (см. фиг. 12В и 12С). Однако, общее количество частиц 40 во всех конфигурациях остается намного ниже предельно допустимых значений согласно USP 6000 частиц >10 мкм/мл и 600 частиц >25 мкм/мл. MFI применялся в качестве ортогонального способа и демонстрировал сходные результаты, хотя между контейнерами наблюдалась меньшая разница, поскольку в программном обеспечении для MFI можно отфильтровать капли кремнийорганического масла из результатов.

45 ii. Обобщенные сведения о стабильности в шприцах Нурак™ для биотехнологических препаратов при 5°C

[00169] В таблице 1 показаны обобщенные данные о стабильности (исследование стабильности № 1), имеющиеся для антитела к IL5R в шприцах Нурак™ для

биотехнологических препаратов при 5°C, за период до 16 месяцев для составов с аргинина и 24 месяцев для состава с трегалозой. Выявляли видимые частицы, что приводило к снижению концентрации PS-20 с 0,02% до 0,006%. Никаких других высоких рисков не идентифицировали, хотя значения количества невидимых невооруженным глазом частиц были различными.

5

ТАБЛИЦА 1

		Диапазон результатов для всех исследуемых моментов времени			
Анализ		2 мг/мл, Arg	20 мг/мл, Arg	20 мг/мл, Tre	100 мг/мл, Tre
10	Внешний вид (видимые частицы, наихудшее наблюдение)	<STD 1	=STD 4	=STD 2	<STD 3
15	NIAC (частиц/мл)	>10 мкм	<590	<3000	<1800
		>25 мкм	<30	<20	<30
20	MFI (частиц/мл)	>10 мкм	<110	<2200	<1400
		>25 мкм	<50	<100	<60
25	SEC (потеря мономеров в %/год)	0%	0,1%	0,1%	0,2%
30	RP (% фрагментации)	≤2,0%	≤1,8%	≤1,9%	≤1,9%
35	Функциональные силы, определенные с помощью Instron (сила, необходимая для начала движения, и сила трения скольжения)	<6 Н	<7 Н	<7 Н	<12 Н
40	Биологический анализ (% активности)	93-116%	92-103%	95-111%	88-99%
45	Биоанализатор	Восстанавливающие условия	В соответствии с эталонным стандартом		
50		Невосстанавливающие условия	В соответствии с эталонным стандартом		
55		cIEF	В соответствии с эталонным стандартом		

Обобщенные сведения о стабильности антитела к IL5R в различных составах в шприцах Нурак для биотехнологических препаратов при 5°C в течение 16 месяцев.

Результаты изучения внешнего вида включали частицы, образование которых

уменьшалось путем снижения концентрации PS-20 (рассматривается в отдельном отчете). Результаты для невидимых невооруженным глазом частиц были различными, но тенденций не наблюдалось. Все другие результаты находились в пределах ожиданий для стабильного продукта. *

iii. Исследование стабильности № 2

[00170] Исследование стабильности № 2 представляло собой исследование стабильности по методу крайних вариантов в предварительно заполненных шприцах и флаконах, предназначенное для определения низкодозового состава и номинального объема и для подтверждения стабильности плацебо.

[00171] Предыдущее исследование стабильности применяли для выбора PFS, имеющего номинальный объем всего 1 мл. Однако, существует ряд потенциальных преимуществ меньшего номинального объема, включающих ослабление боли при инъекции, уменьшение припухлости под кожей, более быстрое введение и уменьшение истечения из места введения.

[00172] Стратегия крайних вариантов для варианта выбора номинального объема 1 мл представляла собой два интервала значений концентрации белка, 2-20 г/л для низкой дозы и 20-100 г/л для высокой дозы. Эти же интервалы значений для номинального объема ½ мл охватывают интервал значений доз 1-50 мг, а для дозы 50-100 мг также требуется интервал значений номинального объема ½ - 1 мл при 100 г/л. Это показано графически на фиг. 13 для ясности. В обоих случаях в составах на основе как аргинина, так и NaCl исследовали наиболее низкий интервал значений доз.

[00173] Заполняющие лекарственные субстанции и плацебо были следующими.

Все растворы: 20 мМ буфера гистидин/гистидин-HCl, 0,02% PS-20, pH 6,0

2 Arg/20 Arg: 2 или 20 г/л антитела к IL5R, 125 мМ аргинина-HCl, 50 мМ трегалозы

2 NaCl/20 NaCl: 2 или 20 г/л антитела к IL5R, 130 мМ NaCl, 50 мМ трегалозы

20 Tre/100 Tre: 20 или 100 г/л антитела к IL5R, 250 мМ трегалозы

Arg-плацебо: 125 мМ аргинина-HCl, 50 мМ трегалозы

NaCl-плацебо: 130 мМ NaCl, 50 мМ трегалозы

5 Tre-плацебо: 250 мМ трегалозы

[00174] Конфигурацию с номинальным объемом 1 мл не включали в исследование каких-либо конфигураций флакона или плацебо в PFS в целях снижения общего объема исследования, поскольку номинальный объем 1/2 мл был наиболее вероятным наихудшим случаем конфигурации ввиду большего соотношения площади поверхности и объема.

10 [00175] Все образцы перевозили и затем помещали на исследование стабильности при 5, 25 и 40°C. В ходе исследования стабильности флаконы хранили в перевернутом положении для максимального увеличения контакта с пробкой. На тот момент, когда в более ранних исследованиях обнаруживали видимые частицы, в этом исследовании 15 стабильности были собраны данные за 6 недель. Кроме того, в составе с NaCl в данном исследовании наблюдали частицы между моментами времени 3 и 6 месяцев (данные не показаны), что приводило к отклонению состава с NaCl в пользу состава с аргинином.

20 [00176] Дополнительная работа по составлению, необходимая для уменьшения образования видимых частиц, описана в следующих примерах и приводит к снижению концентрации полисорбата-20 с 0,02% до 0,006%. Других проблем, связанных со 25 стабильностью, для данного состава не наблюдали, и значительного влияния контейнера или номинального объема не наблюдали. Данные о стабильности за один год, в том числе баллы для видимых частиц, потеря чистоты, определенная с помощью SEC, значения количества частиц, определенные с помощью НПАС, и активность (исследовали не для всех конфигураций во все моменты времени), обобщены на фиг. 14.

Вывод из примера 1

[00177] Проводили скрининг состава, применяя различные стрессовые способы, включая замораживание-размораживание, перемешивание, добавление кремнийорганического масла и ускоренное исследование стабильности. Применили 30 исследование долговременной стабильности для подтверждения результатов скрининговых исследований. Состав с трегалозой в фазе 2b был успешным для жидкостей с высокой концентрацией при повышенной концентрации полисорбата, но проявлял нестабильность при распространении на жидкости с низкими концентрациями, преимущественно посредством образования невидимых невооруженным глазом частиц.

35 Для диапазона низких концентраций состав изменяли путем повышения ионной силы с помощью гидрохлорида аргинина либо хлорида натрия, что приводило к получению стабильного раствора.

[00178] Для охвата широкого диапазона возможных доз (2-100 мг) три потенциальных диапазона состава были следующими:

40 2-20 г/л, 130 мМ гидрохлорида аргинина, 50 мМ дигидрата трегалозы, 20 мМ гистидина/гидрохлорида гистидина, 0,02% полисорбата-20, pH 6,0;

2-20 г/л, 130 мМ хлорида натрия, 50 мМ дигидрата трегалозы, 20 мМ гистидина/гидрохлорида гистидина, 0,02% полисорбата-20, pH 6,0; и

45 20-100 г/л, 250 мМ дигидрата трегалозы, 20 мМ гистидина/гидрохлорида гистидина, 0,02% полисорбата-20, pH 6,0.

[00179] Долговременная стабильность в течение до 24 месяцев указывает на то, что все три состава были стабильными при 2-8°C по отношению к перемешиванию, относительно нечувствительными к кремнийорганическому маслу и совместимыми с

флаконами и PFS. Кроме того, наблюдали минимальное разрушение при повышенных температурах. В ходе продолжительных наблюдений за двумя составами с низкой концентрацией исключали вариант выбора с NaCl вследствие повышенного образования видимых частиц по сравнению с вариантом выбора с аргинином, в результате чего

5 получали два интервала значений для состава. Данные указывали, что предварительно заполненные шприцы являются приемлемыми первичными контейнерами с номинальным объемом 1 мл либо ½ мл. Образование видимых частиц остается проблемой для этих составов, что рассматривается в следующих примерах.

Пример 2. Образование частиц в составах на основе антител к IL5R

10 [00180] Видимые частицы выявляли в водных составах на основе антител к IL5R как во флаконах, так и в PFS в предыдущих исследованиях долговременной стабильности, при этом первый случай выявления имел место в момент времени 6 месяцев (данные не показаны). Исследование проводили для уменьшения образования видимых частиц в составе на основе антител к IL5R, содержащем полисорбат 20 (PS-20), при хранении 15 в течение длительного периода времени. В следующем примере описано долговременное исследование составов, содержащих различные концентрации PS-20 и белка, для подтверждения важности концентрации PS-20 в уменьшении образования частиц. Это исследование привело к обнаружению диапазона приемлемых значений 0,002-0,01% PS-20.

20 Сокращения и определения

Сокращение	Определение	Сокращение	Определение
cIEF	Капиллярное изоэлектрическое фокусирование	MFI	Визуализация микропотока
DLS	Динамическое светорассеяние	PS	Полисорбат
DP	Лекарственный препарат	PFS	Предварительно заполненный шприц
DS	Лекарственная субстанция	RP	Обращенно-фазовая хроматография
FC	Проточная цитометрия	SEC	Эксклюзационная хроматография
Сокращение	Определение		
Arg	Состав с аргинином: 130 мМ аргинина-НCl, 50 мМ дигидрата трегалозы, 20 мМ буфера гистидин/гистидин-НCl, pH 6,0, различные концентрации PS-20		
Tre	Состав с трегалозой: 250 мМ дигидрата трегалозы, 20 мМ буфера гистидин/гистидин-НCl, pH 6,0, различные концентрации PS-20		

Предварительные исследования

35 [00181] Образование частиц выявляли в исследованиях долговременной стабильности, описанных в примере 1. Однако, частицы были чрезвычайно маленькими и выглядели больше похожими на скопление, чем на отдельные частицы. Чтобы увидеть частицы, образцы изучали близко к источнику света. Поскольку частицы были неодинаковыми в стандартных наборах флаконов и PFS, образцы сравнивали друг с другом, а также со стандартами в каждый момент времени.

40 [00182] Частицы впервые выявили в момент времени 6 месяцев во флаконах с 100 г/л Tre с 0,02% PS-20.

45 [00183] Шестимесячные и 11-месячные образцы сравнивали во (1) флаконах и (2) предварительно заполненном шприце (PFS). Оба исследования показывали, что образование частиц было более интенсивным во флаконах, чем в PFS, хотя стандарты PFS в тот момент не были доступными, так что данные о числовом сравнении отсутствуют. Образцы из PFS сливали и вводили в флаконы для исследования внешнего вида. В этих флаконах больше не наблюдали частиц, что подтверждало, что разница не является эффектом длины оптического пути. В составах с трегалозой эта разница между флаконом и PFS является более значительной, чем в составах с аргинином.

[00184] Производили сравнение различных концентраций PS-20 (0, 0,01, 0,02 и 0,03%)

в составах с 100 г/л Tre как во флаконах, так и в PFS после перевозки. Составы с более низкими концентрациями PS-20 от 0 до 0,01% PS-20 совершенно не содержали частиц в момент времени 11 месяцев. Частицы были видимыми как во флаконе, так и в PFS при 0,02% и 0,03% PS-20. Через 20 месяцев PFS с 0 и 0,01% PS-20 PFS и флакон с 0% PS-20 оставались прозрачными, но флакон с 0,01% имел очень небольшой вихрь частиц.

[00185] В целевых исследованиях при их проведении близко к источнику света частицы были четко видны во флаконах и PFS с 100 г/л Tre, 0,02% PS-20, в некоторых случаях уже через 3-4 месяца. При нижнем крайнем значении концентрации в интервале значений для Tre (20 г/л) частицы образовывались гораздо медленнее и наблюдались во флаконах только через 21 месяц. Частицы не наблюдали в PFS с 20 г/л Tre при любых концентрациях PS-20 при наличии данных за период до 21 месяца. Образование частиц в составах с аргинином было несколько более медленным, при этом частицы наблюдали при верхнем крайнем значении концентрации в интервале значений (20 г/л) при 0,02% PS-20 в 6-9 месяцы. Частицы никогда не наблюдали в составе с Arg при 2 г/л при любой концентрации PS-20 в любом контейнере при наличии данных за период до 16 месяцев.

[00186] Исследования при повышенной и стрессовой температуре не обеспечивают понимание образования частиц. При 40°C частицы не образуются в течение всего 3-месячного периода исследования. При 25°C образование частиц было аналогичным или слегка сниженным по сравнению с 5°C.

[00187] Эти данные указывают на то, что верхние крайние значения концентрации белка в интервале значений характеризовались высоким риском появления видимых частиц, а нижние крайние значения характеризовались потенциальным риском в длительном периоде. Изучали снижение концентрации PS-20 для уменьшения образования частиц. Первичный контейнер оставался платформенным PFS, а флаконы применяли для раннего обнаружения образования частиц, поскольку образование частиц во флаконах было более интенсивным, и его было легче увидеть.

Изучение различных концентраций PS-20

[00188] Обширное исследование стабильности было предназначено для изучения образования частиц в различных составах при различных концентрациях PS-20 и различных концентрациях антитела. Все образцы заливали как в PFS, так и во флаконы, дважды перевозили в отдельное местоположение для моделирования процесса дистрибуции и помещали на исследование стабильности при 5°C. Исследование внешнего вида проводили ежемесячно. С помощью SEC, HAC и MFI также исследовали подгруппу образцов в нулевой момент времени, через 3, 6 и 9 месяцев. На фиг. 15 представлены образцы, которые получали в качестве части этих исследований.

[00189] При отсутствии PS-20 при перевозке образовывались невидимые невооруженным глазом частицы, что показано по данным MFI на фиг. 16 для PFS в нулевой момент времени. Наиболее низкий исследуемый уровень PS-20 (0,002%) или больший был достаточным для защиты от стресса при перевозке. Кроме того, было подтверждено, что наиболее низкая концентрация PS-20 (0,002%) является достаточной для защиты DS от стресса при перевозке в резервуаре, с использованием модели в уменьшенном масштабе (данные не показаны в данном документе).

[00190] Результаты изучения внешнего вида относительно частиц показывали, что во флаконах с более чем 0,01% PS-20 наблюдалось значительное образование частиц, и для обоих интервалов значений для состава имело место некоторое количество частиц в PFS при 0,02% PS-20, при этом при нижнем крайнем значении концентрации в обоих интервалах значений наблюдали меньше частиц. См. фиг. 17. Первые наблюдения частиц

имели место через 3 месяца для 100 г/л с Tre и через 6 месяцев для 20 г/л с Arg. На фигурах проиллюстрировано влияние концентрации белка и PS-20 на образование частиц в последний момент времени 9 месяцев. Следует отметить, что все наблюдения образования частиц проводили близко к источнику света.

5 [00191] По данным о внешнем виде устанавливали верхний предел концентрации PS-20 в 0,01%, а по значениям количества невидимых невооруженным глазом частиц устанавливали нижний предел в 0,002% (из имеющихся данных, фактическое предельное значение может быть меньшим). Среднюю точку этого диапазона приемлемых значений (0,006%) устанавливали в качестве новой концентрации PS-20.

10 [00192] Общую стабильность проверяли для образцов в PFS при крайних значениях в интервале значений с включением данных для 2 г/л с Arg и 20 г/л с Arg за период до 9 месяцев и данных для 20 г/л с Tre и 100 г/л с Tre за период до 18 месяцев. Исследование проводили в следующих анализа.

А. 0,002, 0,006 и 0,01% PS-20: внешний вид, НIAS, MFI и SEC.

15 В. Только 0,006% PS-20: Instron, биологический анализ, биологический анализатор, RP и cIEF.

Все данные указывали на то, что новый состав был стабильным и характеризовался низким риском. Обобщенные данные представлены в таблице 2.

ТАБЛИЦА 2		
Анализ		Результаты для всех исследуемых образцов
Внешний вид (видимые частицы, наихудшее наблюдение)		<Std 2
NIAC (частиц/мл)	>10 мкм	<640/мл
	>25 мкм	<30/мл
MFI (частиц/мл)	>10 мкм	<610/мл
	>25 мкм	<60/мл
SEC (потеря мономеров %/год)		0,0-0,4%/год
RP (% фрагментации)		≤1,8%
Функциональные силы, определенные с помощью Instron	Сила, необходимая для начала движения	≤8,5 Н
	Сила трения скольжения	≤11,8 Н
Биологический анализ (% активности)		86-109%
Биоанализатор	Восстанавливающие условия	В соответствии с эталонным стандартом
	Невосстанавливающие условия	В соответствии с эталонным стандартом
cIEF		В соответствии с эталонным стандартом

20 [00193] Имеющиеся данные из примера 2 указывали на то, что путем снижения концентрации PS-20 до 0,006% уменьшали образование частиц и получали продукт в виде состава на основе антител, который являлся стабильным в течение по меньшей мере 9 месяцев (состав с аргинином) или 18 месяцев (состав с трегалозой) без каких-либо признаков предстоящей неудачи.

Пример 3

Ортогональные способы выявления частиц

40 [00194] Основным способом выявления и количественного определения частиц было исследование внешнего вида с помощью визуального контроля, приведенное в примере 2. Визуальный контроль был неодинаковым по ряду причин. В целом, различия при визуальном контроле были обусловлены природной изменчивостью человеческого восприятия, что приводило к различным результатам для разных индивидуумов.

45 Вследствие очень маленького размера этих частиц их видимость сильно зависела от количества света, и они отличались от стандартов частиц как во флаконах, так и в PFS. Эти факторы увеличивали изменчивость результатов среди моментов времени и среди аналитиков.

[00195] Для подтверждения результатов изучения внешнего вида проводили исследование с помощью ортогональных способов. Частицы, образующиеся в составах с трегалозой, были слишком маленькими, чтобы увидеть их по отдельности, поэтому их исследовали с помощью способов оценки невидимых невооруженным глазом частиц.

5 2-недельные и 2-, 5- и 9-месячные образцы в наихудшем случае (100 г/л, Tre, 0,02% PS-20, флакон) из различных партий сравнивали с помощью DLS, FC, HIAC и MFI.

[00196] DLS проводили при 100 г/л, что обуславливало ожидаемую недооценку главного пика и недостоверность всех размеров пиков. Большие пики выявляли для 2-, 5- и 9-месячных образцов, которые имели размер 1,4-2,2 мкм. Хотя

10 зарегистрированный размер был недостоверным, присутствие пиков коррелировало с образованием видимых частиц. Однако, ни зарегистрированный размер частиц, ни интенсивность пиков частиц не коррелировали с результатами визуального изучения внешнего вида.

[00197] Результаты HIAC были сходными для всех образцов; частицы не были

15 выявлены.

[00198] Значения количества, определенные с помощью MFI, для частиц > 10 мкм и > 25 мкм были сходными для всех образцов. Однако, значения количества, определенные с помощью MFI, для частиц > 1 мкм и > 2 мкм и значения количества, определенные с помощью FC, характеризуются тенденцией в отношении результатов визуального

20 изучения внешнего вида и увеличиваются в зависимости от срока хранения образца. Результаты для этих образцов представлены на фиг. 18.

[00199] Дальнейшие эксперименты указывали на то, что количество частиц > 1 мкм, определенное с помощью MFI, более достоверно согласуется с результатами изучения внешнего вида, чем значения количества для больших частиц или при определении с помощью FC (данные не показаны).

[00200] Аналогичные эксперименты проводили с образцами с Arg при 20 г/л, в которых были выявлены видимые частицы, однако ни один из ортогональных способов не был успешным при выявлении этих частиц. Частицы, образующиеся в составах с аргинином, выглядели намного большими, чем частицы, образующиеся в составах с трегалозой, и наблюдались как отдельные частицы, что, вероятно, является причиной того, почему они не выявлялись с помощью способов оценки невидимых невооруженным глазом частиц.

[00201] MFI применяли для подтверждения эффекта концентрации PS-20 в примере 2. Сравнение результатов MFI и баллов внешнего вида показано на фиг. 19 для примера 35 2 в момент времени 9 месяцев. Наряду с дополнительными измерениями (не показано), в сравнении указаны частицы, которые были видимыми, когда количество согласно MFI превышало примерно 100000 частиц > 1 мкм/мл. Результаты MFI обеспечивают дополнительное подтверждение вывода, заключающегося в том, что образование частиц уменьшалось с помощью 0,002-0,01% PS-20, особенно в PFS. Данные по флакону 40 считали худшим случаем, и они также были стабильными при целевой концентрации PS-20, составляющей 0,006%.

Пример 4

Исследование стабильности

[00202] Дополнительное исследование стабильности проводили для изучения всех 45 конфигураций из предыдущих исследований с новой целевой концентрацией PS-20, составляющей 0,006%, и для усиления уверенности в том, что эти составы являются стабильными. Интервал значений включал интервал значений концентраций белка, а также интервал значений номинального объема, и показан графически на фиг. 20.

[00203] Добавление интервала значений номинального объема увеличивало диапазон доз, охватываемых составом с трегалозой. Эти дополнительные конфигурации снижали риск, связанный с составом с аргинином, который был более рискованным, потому что частицы образовывались медленнее и не могли быть выявлены с помощью 5 ортогональных способов. Образцы, включенные в это исследование стабильности, были следующими:

- 0, 2 и 20 г/л, номинальный объем 1 мл, состав с аргинином, 0,006% PS-20;
- 0 и 2 г/л, номинальный объем 0,3 мл, состав с аргинином, 0,006% PS-20;
- 10 0, 20, 50 и 100 г/л, номинальный объем 1 мл, состав с трегалозой, 0,006% PS-20; и 0 и 20 г/л, номинальный объем 0,3 мл, состав с трегалозой, 0,006% PS-20.

[00204] Образцы дважды перевозили во внешнее местоположение для моделирования процесса дистрибуции и помещали на исследование стабильности при 5°C, 25°C и 40°C.

[00205] Для составов с аргинином собирали данные за девять месяцев, а для составов с трегалозой данные были собраны за двенадцать месяцев. Результаты соответствовали 15 данным за прошлые периоды, и до этого момента в этих образцах не наблюдали частиц. Кроме того, для невидимых невооруженным глазом частиц не наблюдалось временных тенденций, хотя встречалось очень незначительное количество умеренно высоких выпадающих значений. Диапазон результатов для всех анализов представлен в таблице 3.

ТАБЛИЦА 3

		Диапазон результатов для всех исследуемых образцов		
Анализ		5°C (9-месячные составы с Arg или 12-месячные составы с Tre)	25°C (6 месяцев)	40°C (1 месяц)
Внешний вид (видимые частицы, наихудшее наблюдение)	=Std 0	<Std 1	=Std 0	
25 НIAS (частиц/мл)	>10 мкм	<2400/мл	<1900/мл	<1900/мл
	>25 мкм	<110/мл	<110 [†] / мл	<100/мл
30 MFI (частиц/мл)	>10 мкм	<100/мл	<700/мл	<50/мл
	>25 мкм	<50/мл	<40/мл	<10/мл
SEC (потеря мономеров)	0-0,3%/год	0,1-0,6%/месяц	2,2-3,5%/месяц	
RP (% фрагментации)	≤1,7%	≤3,6%	≤4,4%	
Функциональные силы, определенные с помощью Instron (сила, необходимая для начала движения, и сила трения скольжения)	≤11,7 Н	Не исследовали	Не исследовали	
Биологический анализ (% активности)	84-122%	83-113%	83-110%	
35 Биоанали-затор	Восстанов-ливающие условия	В соответствии с эталонным стандартом		
	Невосстанов-ливающие условия	В соответствии с эталонным стандартом		
cIEF	В соответствии с эталонным стандартом	Не соответствует эталонному стандарту в момент времени 1 месяц		

[†]43 из 44 измерений попадали в этот диапазон, но также было определено одно выпадающее значение 347 частиц/мл.

[00206] Данные подтверждают рекомендацию этого интервала значений для состава для полного диапазона доз. Интервал значений для трегалозы характеризовался меньшим риском, чем интервал значений для аргинина, и был рекомендован для доз до 6 мг.

Вывод из примеров 2-4

[00207] Наблюдения частиц в предыдущих исследованиях долговременной стабильности привели к изучению параметров состава, которые можно изменить для улучшения стабильности. Ключевые параметры, концентрацию белка и полисорбата, исследовали и анализировали. На основании данных, приведенных выше, допустимый

диапазон для полисорбата от 0,002% до 0,01% и целевая концентрация 0,006% были определены как оптимальные параметры состава для состава на основе антител к IL5R. Это наблюдение было подтверждено с помощью двух исследований стабильности с имеющимися данными за 18 и 12 месяцев, преимущественно с помощью визуального

5 исследования внешнего вида.

[00208] Также наблюдали, что состав с трегалозой может применяться вместо состава с аргинином в диапазоне 6-20 мг с применением интервала значений объема 0,3-1,0 мл при 20 мг/мл. Было обнаружено, что состав с трегалозой являлся более поддающимся оценке, чем состав с аргинином, вследствие большего набора данных и лучшего

10 выявления.

Пример 5

[00209] Дополнительный вариант очистки выполняли с ориентацией на снижение уровня белка клетки-хозяина (HCP) для того, чтобы определить эффект HCP в отношении образования частиц. Антитела к IL5R очищали, как показано в общих чертах на фиг.

15 21.

[00210] 2D-анализ в геле элюата из колонки с белком А указывал на присутствие нескольких видов белков. См, например, фиг. 22. Основные примеси, определенные с помощью комбинации обращенно-фазовой хроматографии и масс-спектрометрии (RP-MS), включали приблизительно 60% Fab-фрагмента, приблизительно 5% легкой цепи

20 (LC) и ее фрагментов и приблизительно 40% белков клетки-хозяина (HCP), не родственных антителу к IL5R. HCP, не родственные антителу к IL5R, включали глутатион-S-трансферазу (GST), фруктозобифосфатальдолазу и трансальдолазу.

[00211] Элюат из колонки с белком А дополнительно пропускали через колонку с белком L для дополнительного отделения (1) Fab-фрагментов от (2) HCP, отличных от 25 антитела к IL5R. Было обнаружено, что образование частиц было обусловлено некоторым количеством материала HCP, отличных от антитела к IL5R, а не Fab-фрагментами (данные не показаны).

[00212] Для определения того, какой из основных HCP обуславливал образование частиц, вначале изучали GST. Роль GST в образовании частиц изучали путем (1) избирательного удаления GST для определения эффекта в отношении образования частиц, (2) анализа осадков с частицами для определения присутствия GST в осадке и (3) добавления GST к составам на основе антител к IL5R для определения эффекта в отношении образования частиц.

[00213] Предварительные данные о специфическом удалении GST с применением 35 аффинной матрицы, изготовленной из конъюгата глутатион-сепароза, свидетельствуют о том, что удаление GST приводило к снижению образования частиц (данные не показаны). Анализ образцов осадка, образуемого элюатом из колонки с белком А, указывал на присутствие высоких концентраций GST в образцах осадка (данные не показаны).

[00214] GST добавляли (т.е. вводили) в очищенные составы на основе антител к IL5R, в которых отсутствовали частицы, для определения эффекта GST в отношении образования частиц. GST получали от коммерческого поставщика (Prospec). GST добавляли в состав, содержащий 50 мг/мл антитела к IL5R, 20 мМ буфера гистидин-HCl, 9% (вес/объем) трегалозы, 0,02% PS-20, pH 6,0, в результате чего получали

45 концентрации GST от 3,8 мкг/мг до 7,6 мкг/мг. Образцы инкубировали при 38-42°C. Наблюдение частиц проводили, помещая образцы на просмотровый стол. Время инкубирования, необходимое для наблюдения образования частиц, зависело от уровня присутствующей GST. В образцах с введенной GST как при 3,8 мкг/мг, так и при 7,6

мкг/мг частицы были выявлены через 24 часа инкубирования при 38-42°C (данные не показаны).

[00215] Данные результаты свидетельствуют о том, что введение GST в составы на основе антител к IL5R вызывает образование частиц в составе на основе антител к IL5R.

Пример 6

[00216] Изучали активность GST в различных составах на основе антител к IL5R, очищенных различными способами. Применяли анализ активности GST (BioVision) для определения концентраций GST с построением калибровочной кривой в качестве предварительной задачи. GST катализирует образование связи тиольной группы глутатиона (GSH) с электрофильными соединениями, такими как 1-хлор-2,4-динитробензол (CDNB), для образования конъюгата GS-DNB, выявляемого при 340 нМ. Следовательно, увеличение поглощения при 340 нМ прямо пропорционально активности GST. С применением данного анализа определяли концентрацию GST в различных составах на основе антител к IL5R (образцы A-J), очищенных с помощью различных процедур. Между концентрацией GST и образованием частиц была отмечена корреляция. Результаты представлены в таблице 4.

Таблица 4

Образец	Концентрация GST	Описание частиц
A	188,4	Большое количество частиц (наибольшее)
B	0,422	Практически не содержит*
C	2,074	Практически не содержит*
D	1930,5	Большое количество частиц
E	1950,6	Большое количество частиц
F	1774,2	Большое количество частиц
G	40,6	Образующиеся частицы
H	1,073	Некоторое количество частиц
I	<LLOQ	Не содержит частиц
J	5,416	Образующиеся частицы

* Некоторое, но не большое, количество частиц. LLOQ = нижний предел количественного определения.

[00217] Эти данные подтверждают, что присутствие GST коррелирует с образованием частиц.

Пример 7

[00218] Различные очистительные колонки изучали для того, чтобы определить наиболее эффективный способ снижения концентрации GST в составе на основе антител к IL5R. См. таблицу 5. Концентрацию GST определяли в соответствии с описанным в общих чертах в примере 6.

Таблица 5

Описание	Концентрация GST (мкг/мл)
Продукт СМ	5,935
Продукт НА	1,255
Продукт MabSelect Sure для элюирования	<LLOQ
Продукт CaptoAdhere	<LLOQ
Продукт CEX*	9,228
Продукт CEX*	21,081

* Определяли концентрации GST в двух отдельных партиях антител к IL5R.

[00219] Данные таблицы 5 свидетельствуют о том, что как колонка с белком А (MabSelect Sure), так и колонка для хроматографии в смешанном режиме (CaptoAdhere)

являлись эффективными для снижения концентрации GST ниже выявляемого уровня при очистке антитела к IL5R.

Пример 8

[00220] Изучали присутствие GST в других препаратах антител. Также изучали

5 присутствие частиц в этих препаратах антител. Результаты с пояснениями представлены в таблице 6.

Таблица 6			
Состав на основе анти- тел	Выявлена ли активная GST?	Имеется ли тенденция в отношении образования частиц?	Пояснения
Антитело к IL5R	Да	Да	N/A
A	Да	N/A	Данных о частицах недостаточно для определения тенденции
B	Нет (за исключением 1 образца)	Нет	Свидетельствует о том, что GST может не являться причиной образования частиц для этого Ab
C	Да	N/A	Активная GST, но отсутствует образование частиц
D	Да	N/A	Данных о частицах недостаточно для определения тенденции

[00221] Все из различных вариантов осуществления или вариантов выбора, описанных в данном документе, могут быть объединены в любые возможные варианты. Хотя настоящее изобретение было конкретно представлено и описано со ссылкой на

20 некоторые его варианты осуществления, специалистам в данной области будет понятно, что они были представлены только в качестве примера, а не ограничения, и в них могут быть сделаны различные изменения в форме и деталях без отступления от сущности и объема настоящего изобретения. Таким образом, широта и объем настоящего изобретения не должны быть ограничены ни одним из описанных выше иллюстративных 25 вариантов осуществления, но должны быть определены только в соответствии с нижеследующими пунктами формулы изобретения и их эквивалентами.

[00222] Все документы, цитируемые в данном документе, в том числе журнальные статьи или рефераты, опубликованные или соответствующие заявки на патенты США или иностранные патенты, выданные или иностранные патенты или любые другие

30 документы, включены в данный документ посредством ссылки, включая все данные, таблицы, фигуры и текст, представленные в цитируемых документах.

СПИСОК ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ

<110> МЕДИММЬЮН, ЭЛ.ЭЛ.СИ

<120> СТАБИЛЬНЫЕ ВОДНЫЕ СОСТАВЫ НА ОСНОВЕ АНТИТЕЛ

35 <130> IL5R-400WO1

<140>

<141>

<150> 61/895,143

<151> 2013-10-24

40 <160> 10

<170> PatentIn, версия 3.5

<210> 1

<211> 107

<212> БЕЛОК

45 <213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: синтетический полипептид

<400> 1

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gly Thr Ser Glu Asp Ile Ile Asn Tyr
 20 25 30
 5 Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45
 Tyr His Thr Ser Arg Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 10 65 70 75 80
 Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Tyr Thr Leu Pro Tyr
 85 90 95
 Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105
 15 <210> 2
 <211> 214
 <212> БЕЛОК
 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 20 <223> Описание искусственной последовательности: синтетический полипептид
 <400> 2
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gly Thr Ser Glu Asp Ile Ile Asn Tyr
 25 20 25 30
 Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45
 Tyr His Thr Ser Arg Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 30 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80
 Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Tyr Thr Leu Pro Tyr
 85 90 95
 Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
 35 100 105 110
 Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
 115 120 125
 Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
 130 135 140
 40 Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
 145 150 155 160
 Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
 165 170 175
 Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
 45 180 185 190
 Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
 195 200 205
 Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210
 <210> 3
 <211> 121
 <212> БЕЛОК
 5 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 <223> Описание искусственной последовательности: синтетический полипептид
 <400> 3
 Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 10 1 5 10 15
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
 20 20 25 30
 Val Ile His Trp Val Arg Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Ala Trp Met
 35 35 40 45
 Gly Tyr Ile Asn Pro Tyr Asn Asp Gly Thr Lys Tyr Asn Glu Arg Phe
 15 50 55 60
 Lys Gly Lys Val Thr Ile Thr Ser Asp Arg Ser Thr Ser Thr Val Tyr
 65 65 70 75 80
 Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Leu Cys
 20 85 90 95
 Gly Arg Glu Gly Ile Arg Tyr Tyr Gly Leu Leu Gly Asp Tyr Trp Gly
 100 100 105 110
 Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 115 120
 25 <210> 4
 <211> 451
 <212> БЕЛОК
 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 30 <223> Описание искусственной последовательности: синтетический полипептид
 <400> 4
 Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1 1 5 10 15
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
 35 20 25 30
 Val Ile His Trp Val Arg Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Ala Trp Met
 35 35 40 45
 Gly Tyr Ile Asn Pro Tyr Asn Asp Gly Thr Lys Tyr Asn Glu Arg Phe
 50 50 55 60
 40 Lys Gly Lys Val Thr Ile Thr Ser Asp Arg Ser Thr Ser Thr Val Tyr
 65 65 70 75 80
 Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Leu Cys
 85 85 90 95
 Gly Arg Glu Gly Ile Arg Tyr Tyr Gly Leu Leu Gly Asp Tyr Trp Gly
 45 100 100 105 110
 Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
 115 115 120 125
 Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala

	130	135	140
	Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val		
5	145	150	155
	Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala		
	165	170	175
	Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val		
	180	185	190
	Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His		
	195	200	205
10	Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys		
	210	215	220
	Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly		
	225	230	235
	Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met		
15	245	250	255
	Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His		
	260	265	270
	Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val		
	275	280	285
20	His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr		
	290	295	300
	Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly		
	305	310	315
	Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile		
25	325	330	335
	Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val		
	340	345	350
	Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser		
	355	360	365
30	Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu		
	370	375	380
	Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro		
	385	390	395
	Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val		
35	405	410	415
	Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met		
	420	425	430
	His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser		
	435	440	445
40	Pro Gly Lys		
	450		
	<210> 5		
	<211> 5		
	<212> БЕЛОК		
45	<213> Искусственная последовательность		
	<220>		
	<223> Описание искусственной последовательности: синтетический полипептид		
	<400> 5		

Ser Tyr Val Ile His
 1 5
 <210> 6
 <211> 17
 5 <212> Белок
 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 <223> Описание искусственной последовательности: синтетический полипептид
 <400> 6

10 Tyr Ile Asn Pro Tyr Asn Asp Gly Thr Lys Tyr Asn Glu Arg Phe Lys
 1 5 10 15
 Gly
 <210> 7
 <211> 12
 15 <212> БЕЛОК
 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 <223> Описание искусственной последовательности: синтетический полипептид
 <400> 7

20 Glu Gly Ile Arg Tyr Tyr Gly Leu Leu Gly Asp Tyr
 1 5 10
 <210> 8
 <211> 11
 <212> БЕЛОК
 25 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 <223> Описание искусственной последовательности: синтетический полипептид
 <400> 8
 Gly Thr Ser Glu Asp Ile Ile Asn Tyr Leu Asn
 30 1 5 10
 <210> 9
 <211> 7
 <212> БЕЛОК
 <213> Искусственная последовательность
 35 <220>
 <223> Описание искусственной последовательности: синтетический полипептид
 <400> 9
 His Thr Ser Arg Leu Gln Ser
 1 5
 40 <210> 10
 <211> 9
 <212> БЕЛОК
 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 45 <223> Описание искусственной последовательности: синтетический полипептид
 <400> 10
 Gln Gln Gly Tyr Thr Leu Pro Tyr Thr
 1 5

(57) Формула изобретения

1. Стабильный водный состав на основе антитела, содержащий:

5 а. от приблизительно 2 мг/мл до приблизительно 100 мг/мл антитела, где антитело содержит вариабельную область тяжелой цепи и вариабельную область легкой цепи, где вариабельная область тяжелой цепи содержит определенные по Kabat последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 с SEQ ID NO: 5-7, и где вариабельная область легкой цепи содержит определенные по Kabat последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 с SEQ ID NO: 8-10, и

10 б. от приблизительно 0,002% до приблизительно 0,01% полисорбата-20.

2. Состав на основе антитела по п.1, дополнительно содержащий незаряженное вспомогательное вещество.

3. Состав на основе антитела по п.2, где незаряженное вспомогательное вещество представляет собой трегалозу.

15 4. Состав на основе антитела по п.1, содержащий от приблизительно 20 до приблизительно 100 мг/мл антитела.

5. Состав на основе антитела по п.3, где концентрация незаряженного вспомогательного вещества составляет от приблизительно 200 мМ до приблизительно 400 мМ.

20 6. Состав на основе антитела по п.1, дополнительно содержащий гистидин.

7. Состав на основе антитела по п.6, где концентрация гистидина составляет от приблизительно 15 мМ до приблизительно 30 мМ.

8. Состав на основе антитела по п.1, где состав является стабильным при хранении при приблизительно 25°C в течение по меньшей мере 3 месяцев.

25 9. Состав на основе антитела по п.1, где состав практически не содержит частиц при хранении при приблизительно 40°C в течение по меньшей мере 1 месяца, что определяется с помощью визуального контроля.

10. Состав на основе антитела по п.1, где состав представляет собой инъекционный состав.

30 11. Набор, который представляет собой герметичный контейнер, содержащий состав на основе антитела по п.1.

12. Лекарственная форма, подходящая для парентерального введения человеку, которая содержит состав на основе антитела по п.1 в подходящем контейнере.

35 13. Лекарственная форма по п.12, где подходящий контейнер представляет собой предварительно заполненный шприц.

14. Лекарственная форма по п.13, где предварительно заполненный шприц содержит иглу.

29G. 15. Лекарственная форма по п.14, где игла представляет собой тонкостенную иглу 29G.

40 16. Предварительно заполненный шприц, содержащий:

а. от приблизительно 20 мг/мл до приблизительно 100 мг/мл антитела, где антитело содержит вариабельную область тяжелой цепи и вариабельную область легкой цепи, где вариабельная область тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 3, и где вариабельная область легкой цепи содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1, и

45 б. от приблизительно 0,002% до приблизительно 0,01% полисорбата-20.

17. Способ получения стабильного водного состава на основе антитела, где способ включает:

а. очистку антитела до от приблизительно 1 мг/мл до приблизительно 400 мг/мл, где антитело содержит вариабельную область тяжелой цепи и вариабельную область легкой цепи, где вариабельная область тяжелой цепи содержит определенные по Kabat последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 с SEQ ID NO: 5-7, и где вариабельная область 5 легкой цепи содержит определенные по Kabat последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 с SEQ ID NO: 8-10;

б. помещение выделенного антитела в стабилизирующий состав с получением стабильного водного состава на основе антитела, где полученный стабильный водный состав на основе антитела содержит:

- 10 i. от приблизительно 2 мг/мл до приблизительно 100 мг/мл антитела и
ii. от приблизительно 0,002% до приблизительно 0,01% полисорбата-20.

18. Способ лечения легочного заболевания или нарушения у пациента, где способ включает введение терапевтически эффективного количества состава на основе антитела по п.1.

- 15 19. Способ по п.18, где легочное заболевание или нарушение представляет собой астму, COPD, эозинофильную астму, смешанную эозинофильно-нейтрофильную астму, аспириновую астму, аллергический бронхолегочный аспергиллез, острый и хронический эозинофильный бронхит, острую и хроническую эозинофильную пневмонию, синдром Черджа-Страсса, гиперэозинофильный синдром, легочную эозинофилию, вызванную 20 лекарственным средством, раздражающим средством и радиоактивным облучением, легочную эозинофилию, вызванную инфекцией (грибковой, туберкулезной, паразитарной), легочную эозинофилию, ассоцииированную с аутоиммунным заболеванием, эозинофильный эзофагит, болезнь Крона или их комбинацию.

25

30

35

40

45

ФИГ. 1

SEQ ID NO: 1: вариабельная область легкой цепи антитела к IL5R
 DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCGTSEDIINYLNWYQQKPGKAPKLLIYHTSRLQSGVPSR
 FSQSGSGTDFTLTISLQLPEDFATYYCQQGYTLPYTFGQGQTKVEIK

SEQ ID NO: 2: легкая цепь антитела к IL5R
 DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCGTSEDIINYLNWYQQKPGKAPKLLIYHTSRLQSGVPSR
 FSQSGSGTDFTLTISLQLPEDFATYYCQQGYTLPYTFGQGQTKVEIKRTVAAPSVFIEPPSDE
 QLKSGTASVVCNLYFREAKVQWVYDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTTLS
 KADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

SEQ ID NO: 3: вариабельная область тяжелой цепи антитела к IL5R
 EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYVIIHWVRQRPGQGLAWMGYINPYNDG
 TKYNERFKGKVITTSRSTSTVYMESSLRSEDTAVYLCGREGIRYYGLGDVWGQGTL
 VTVSS

SEQ ID NO: 4: тяжелая цепь антитела к IL5R
 EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYVIIHWVRQRPGQGLAWMGYINPYNDG
 TKYNERFKGKVITTSRSTSTVYMESSLRSEDTAVYLCGREGIRYYGLGDVWGQGTL
 VTVSSASTKGPSVFP LAPSSKSTSGTAALGCLVKDYFPEPVTVWSNSGALTSGVHTFPA
 VLQSSGLYLSVSVTVPSSSLGTQTYICNVNHPNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPAP
 ELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP
 REEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIETISKAKGQPREPVYTL
 LPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKL
 TVDKSRWQQNVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

SEQ ID NO: 5: CDR1 VH антитела к IL5R
 SYVIH

SEQ ID NO: 6: CDR2 VH антитела к IL5R
 YINPYNDGDKYNERFKG

SEQ ID NO: 7: CDR3 VH антитела к IL5R
 EGIRYYGLLQDY

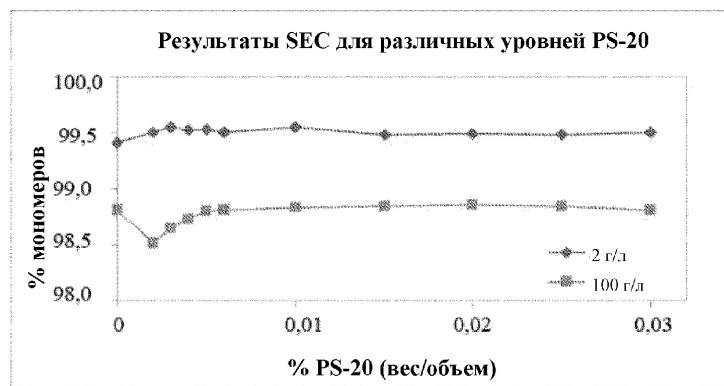
SEQ ID NO: 8: CDR1 VL антитела к IL5R
 GTSEDIINYLN

SEQ ID NO: 9: CDR2 VL антитела к IL5R
 HTSRLQ

SEQ ID NO: 10: CDR3 VL антитела к IL5R
 QQGYTLPY

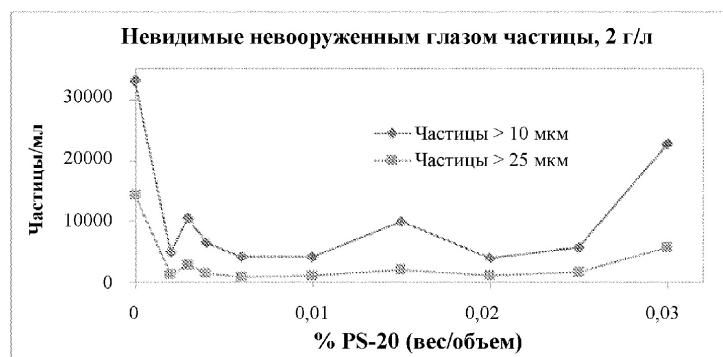
2/24

ФИГ. 2

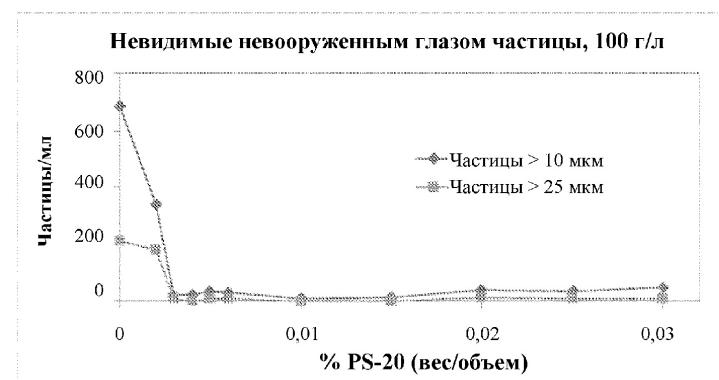


3/24

ФИГ. 3

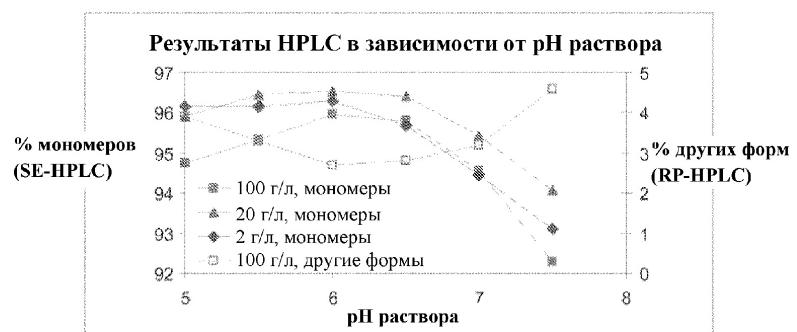


ФИГ. 4



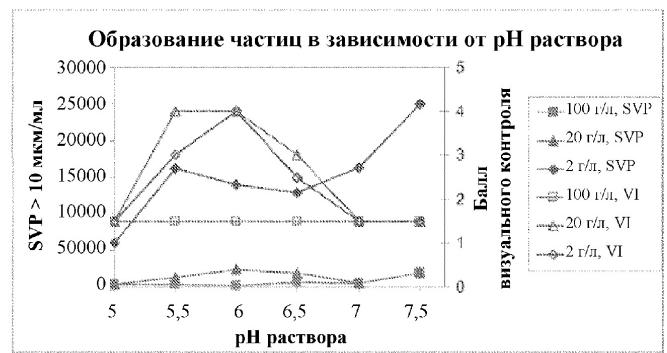
5/24

ФИГ. 5



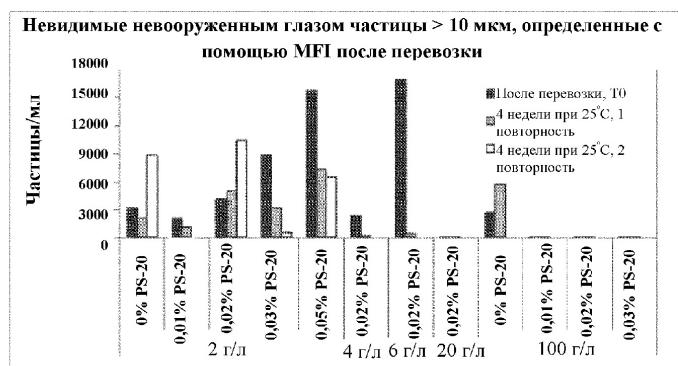
6/24

ФИГ. 6

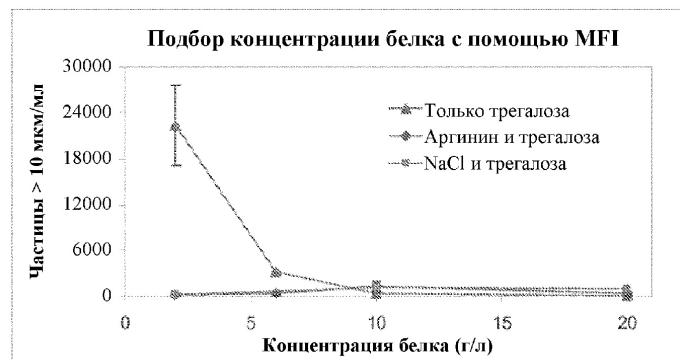


7/24

ФИГ. 7

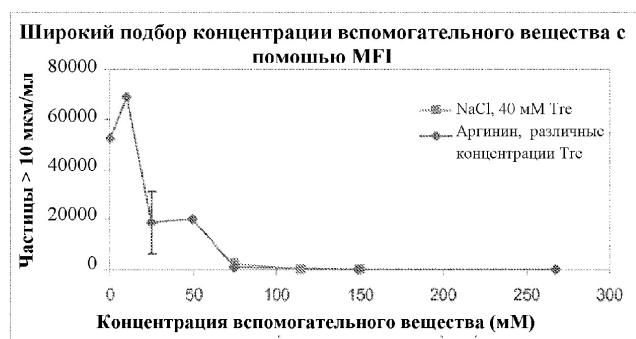


ФИГ. 8



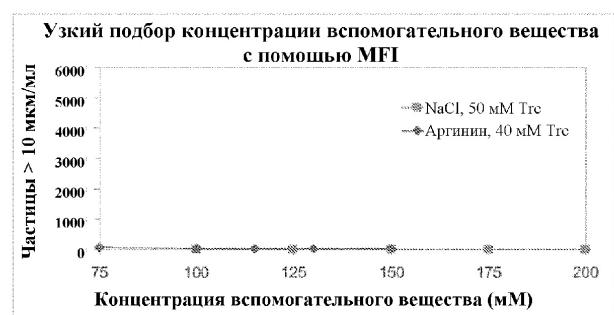
9/24

ФИГ. 9

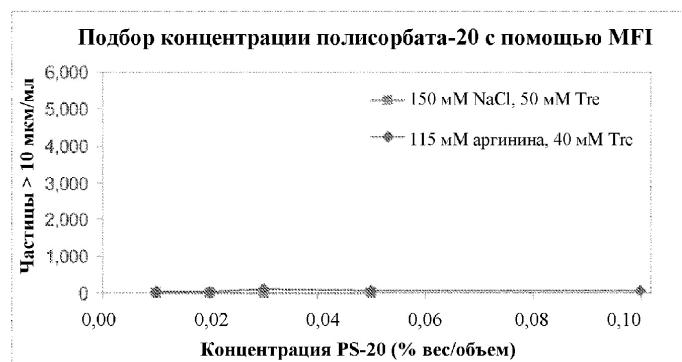


10/24

ФИГ. 10



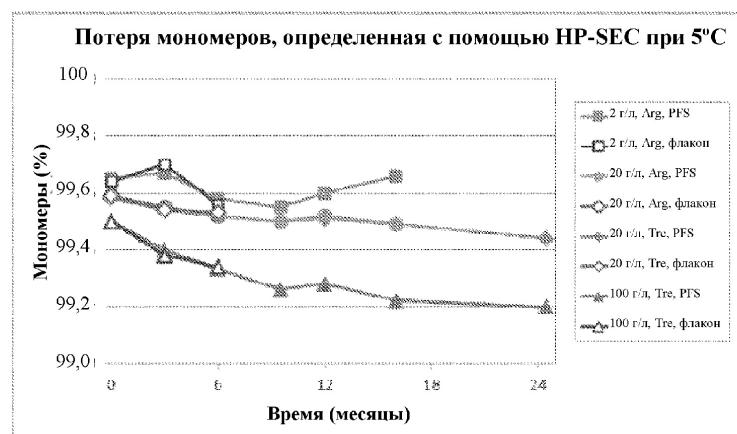
ФИГ. 11



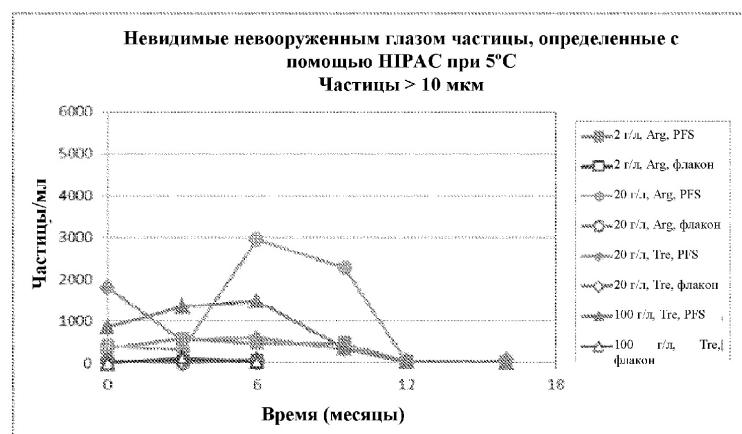
12/24

ФИГ. 12

A

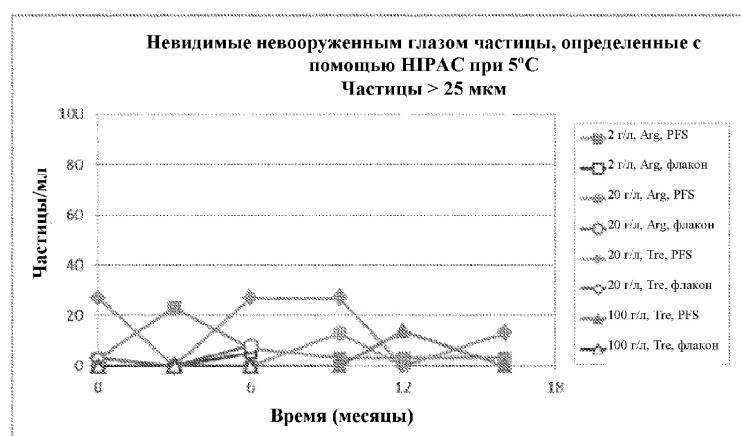


B

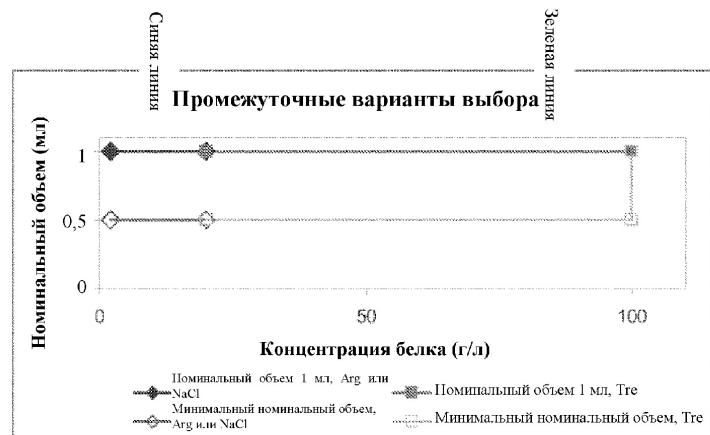


ФИГ. 12 (продолжение)

С



ФИГ. 13

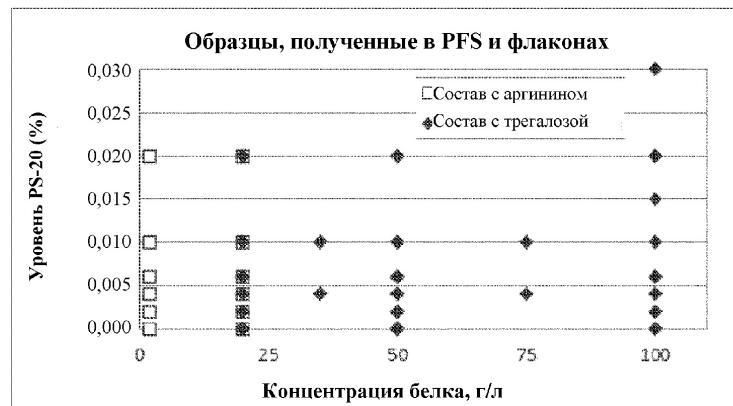


ФИГ. 14

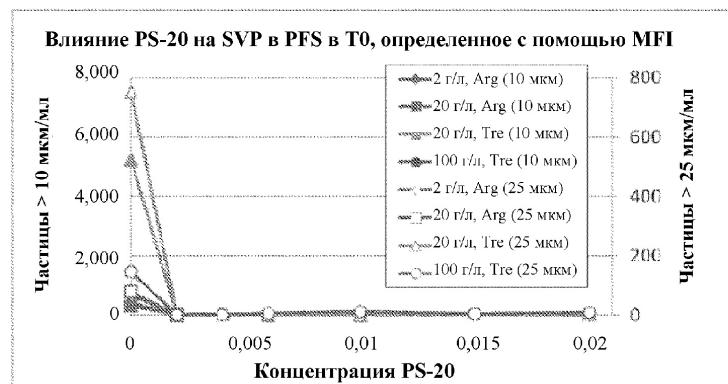
Состав	Концентрация белка и конфигурация для заполнения	Видимые частицы (наихудшее наблюдение)	Потеря мономеров, определенная с помощью SEC	Повидимые неооруженным глазом частицы, определенные с помощью НIAS		Активность
				> 10 мкм	> 25 мкм	
130 мМ аргинина, 50 мМ трегалозы, 20 мМ гистидина, 0,02% PS-20, pH 6,0	2 г/л, PFS на 1 мл	= STD 0	0,0%/год	< 590	< 20	> 100%
	2 г/л, PFS на 1/2 мл	= STD 0	0,0%/год	< 680	< 20	> 100%
	2 г/л, флакон на 1/2 мл	= STD 1	0,0%/год	< 80	< 10	> 100%
	20 г/л, PFS на 1 мл	< STD 4	0,0%/год	< 2010*	< 70	> 97%
	20 г/л, PFS на 1/2 мл	Исследовали только в T0				
	20 г/л, флакон на 1/2 мл	= STD 1	0,1%/год			> 100%
250 мМ трегалозы, 20 мМ гистидина, 0,02% PS-20, pH 6,0	20 г/л, PFS на 1 мл	= STD 1	0,0%/год	< 540	< 20	> 91%
	20 г/л, PFS на 1/2 мл	< STD 1	0,1%/год	< 230	< 10	> 95%
	20 г/л, флакон на 1/2 мл	= STD 2	0,5%/год	< 120	< 20	> 100%
	100 г/л, PFS на 1 мл	< STD 3	0,2%/год	< 1000	< 40	> 92%
	100 г/л, PFS на 1/2 мл	Исследовали только в T0				
	100 г/л, флакон на 1/2 мл	= STD 1	0,4%/год	< 100	< 30	> 99%

*Одно выпадающее значение 2010 частиц/мл. Другие 6 измерений < 820 частиц/мл, в том числе 3 более поздних измерения, чем выпадающее значение.

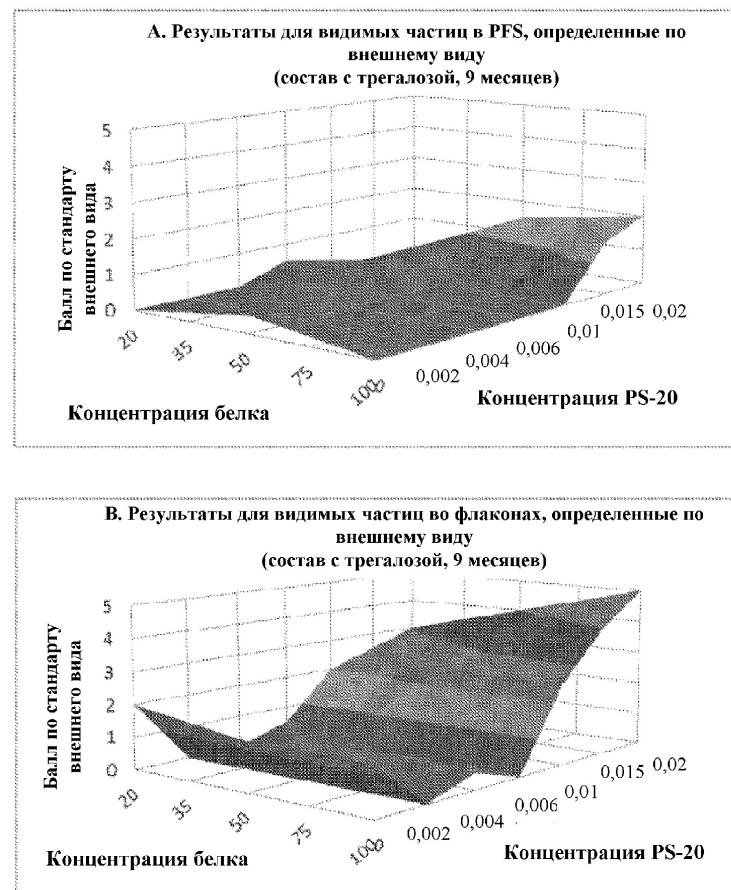
ФИГ. 15

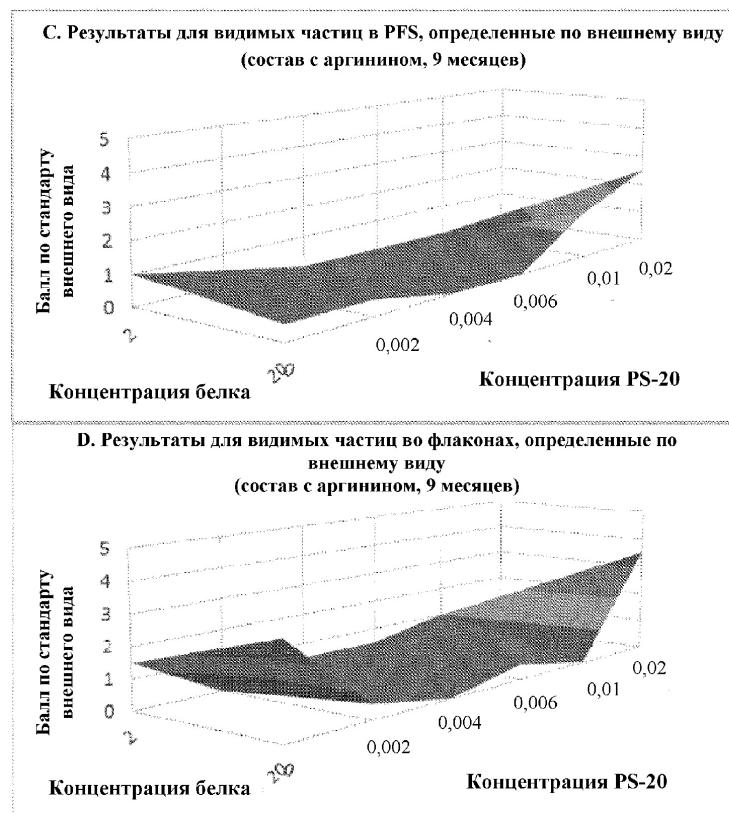


ФИГ. 16

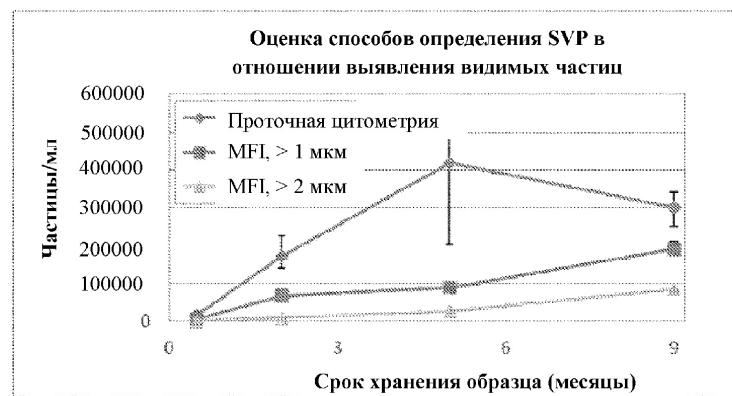


ФИГ. 17

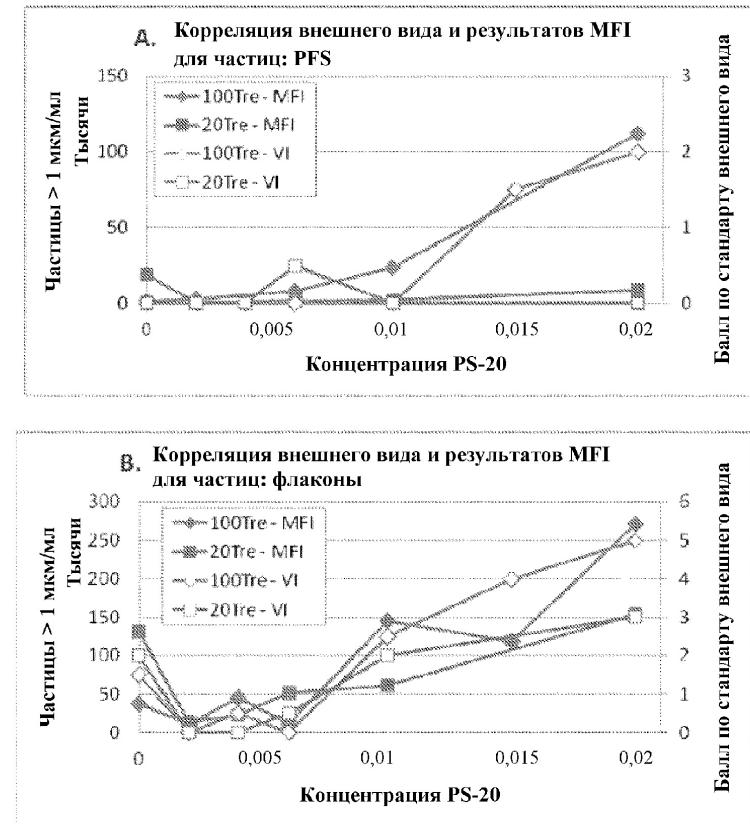




ФИГ. 18

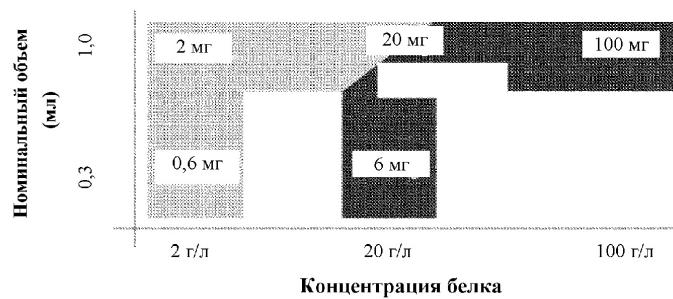


ФИГ. 19

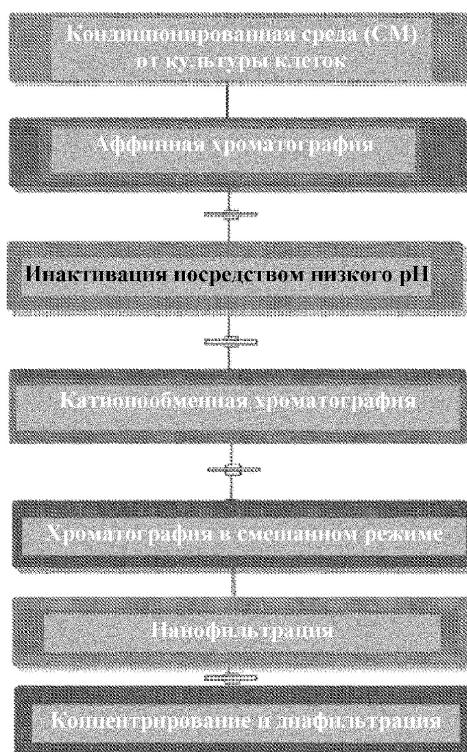


22/24

ФИГ. 20

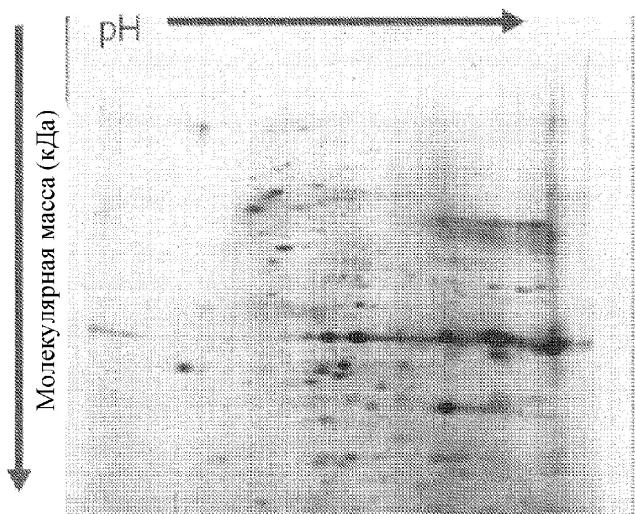


ФИГ. 21



24/24

ФИГ. 22



4828-6126-0054, v. 1