



República Federativa do Brasil  
Ministério da Economia  
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(21) BR 112020003498-3 A2



(22) Data do Depósito: 22/08/2018

(43) Data da Publicação Nacional: 25/08/2020

(54) **Título:** COMPOSIÇÕES FARMACÊUTICAS E REGIMES DE DOSAGEM QUE CONTÊM ANTICORPOS ANTI-ALFA(V) BETA(6)

(51) **Int. Cl.:** A61K 39/395; C07K 16/18; C07K 16/28.

(30) **Prioridade Unionista:** 22/08/2017 US 62/548,772.

(71) **Depositante(es):** BIOGEN MA, INC..

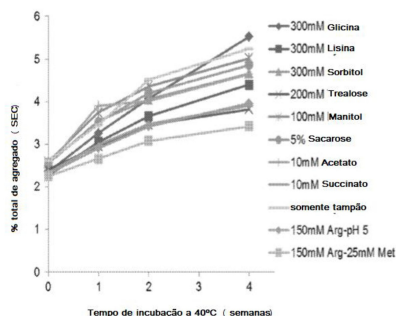
(72) **Inventor(es):** TIA BRIE ESTEY; GEETHA GOVINDAN; SONAL SALUJA; KAPIL GUPTA; MARGARET MCGRATH.

(86) **Pedido PCT:** PCT US2018047502 de 22/08/2018

(87) **Publicação PCT:** WO 2019/040608 de 28/02/2019

(85) **Data da Fase Nacional:** 19/02/2020

(57) **Resumo:** A presente invenção refere-se às formulações e esquemas de dosagem de um anticorpo anti-avβ6 ou fragmento de ligação ao avβ6 do mesmo. Essas formulações são úteis no tratamento de, por exemplo, fibrose (por exemplo, fibrose pulmonar idiopática), lesão pulmonar aguda e lesão renal aguda.



Relatório Descritivo da Patente de Invenção para “**COMPOSIÇÕES FARMACÊUTICAS E REGIMES DE DOSAGEM QUE CONTÊM ANTICORPOS ANTI-ALFA(V)BETA(6)**”.

Referência Cruzada a Pedidos Relacionados

[001] Este pedido reivindica o benefício da prioridade do Pedido Provisório U.S. 62/548.772, depositado em 22 de agosto de 2017, cujo conteúdo é incorporado por referência na íntegra neste documento.

Campo

[002] O presente pedido refere-se geralmente a composições farmacêuticas e regimes de dosagem para uso clínico compreendendo anticorpos anti- $\alpha\beta 6$  e usos dos mesmos.

Antecedentes

[003] As integrinas são uma superfamília de receptores de glicoproteínas da superfície celular, que se ligam às proteínas da matriz extracelular e mediam as interações célula-célula e matriz extracelular (geralmente denominadas eventos de adesão celular). Esses receptores são compostos de cadeias alfa ( $\alpha$ ) e beta ( $\beta$ ) não covalentemente associadas, que se combinam para fornecer uma variedade de proteínas heterodiméricas com especificidades celulares e adesivas distintas. As integrinas regulam uma variedade de processos celulares, incluindo adesão celular, migração, invasão, diferenciação, proliferação, apoptose e expressão genética.

[004] O receptor  $\alpha\beta 6$  é um membro de uma família de integrinas que são expressas como proteínas heterodiméricas da superfície celular. Enquanto a subunidade  $\alpha$  pode formar um heterodímero com uma variedade de subunidades  $\beta$  ( $\beta 1$ ,  $\beta 3$ ,  $\beta 5$ ,  $\beta 6$  e  $\beta 8$ ), a subunidade  $\beta 6$  só pode ser expressa como um heterodímero com a subunidade  $\alpha$ . A integrina  $\alpha\beta 6$  é conhecida por ser um receptor de superfície celular de ligação à tenascina C, de peptídeo associado à latência (LAP) de vitronectina e de fibronectina interagindo com a matriz extracelular

através dos sítios de ligação ao tripeptídeo RGD. A expressão de  $\alpha\beta 6$  é restrita a células epiteliais, onde é expressa em níveis relativamente baixos em tecido saudável e significativamente aumentada durante o desenvolvimento, lesão e cicatrização.

[005] Como a ligação de  $\alpha\beta 6$  ao LAP é importante na conversão de TGF- $\beta$  para o seu estado ativo, o bloqueio da ligação pode resultar na inibição da ativação de TGF- $\beta$  mediada por  $\alpha\beta 6$  e na patologia fibrótica associada.

[006] Demonstrou-se que os anticorpos antagonistas de alta afinidade que se ligam  $\alpha\beta 6$  são úteis no tratamento de distúrbios associados ao TGF- $\beta$ .

### Sumário

[007] Esta divulgação se refere, em parte, a composições que contêm um anticorpo anti- $\alpha\beta 6$  ou um fragmento de ligação  $\alpha\beta 6$  e seu uso no tratamento de, entre outros, fibrose, lesão pulmonar aguda e lesão renal aguda.

[008] Em um aspecto, a divulgação apresenta uma composição farmacêutica compreendendo um anticorpo anti- $\alpha\beta 6$  ou fragmento de ligação ao  $\alpha\beta 6$  e cloridrato de arginina (Arg.HCl). O anticorpo anti- $\alpha\beta 6$  ou fragmento de ligação a  $\alpha\beta 6$  compreende um domínio variável de cadeia pesada (VH) de imunoglobulina e um domínio variável de cadeia leve (VL) de imunoglobulina. Em certos casos, o VH compreende regiões determinantes de complementaridade de VH (VH-CDRs), em que VH-CDR1 compreende ou consiste na sequência de aminoácidos apresentada na SEQ ID NO: 1 ou 11; VH-CDR2 compreende ou consiste na sequência de aminoácidos apresentada na SEQ ID NO: 2; e VH-CDR3 compreende ou consiste na sequência de aminoácidos apresentada na SEQ ID NO: 3; e o VL compreende VL-CDRs, em que VL-CDR1 compreende ou consiste na sequência de aminoácidos apresentada na SEQ ID NO: 4; VL-CDR2 compreende ou consiste na

sequência de aminoácidos apresentada na SEQ ID NO: 5; e VL-CDR3 compreende ou consiste na sequência de aminoácidos apresentada na SEQ ID NO: 6. A composição tem um pH de 5,2 a 5,7.

[009] Em certas modalidades, a composição compreende o anticorpo anti- $\alpha\beta6$  ou fragmento de ligação ao  $\alpha\beta6$  do mesmo a uma concentração de 50 mg/ml a 200 mg/ml. Em outras modalidades, a composição compreende o anticorpo anti- $\alpha\beta6$  ou fragmento de ligação ao  $\alpha\beta6$  do mesmo a uma concentração de 100 mg/ml a 175 mg/ml. Em outras modalidades, a composição compreende o anticorpo anti- $\alpha\beta6$  ou fragmento de ligação ao  $\alpha\beta6$  do mesmo a uma concentração de 125 mg/ml a 175 mg/ml. Em ainda outras modalidades, a composição compreende o anticorpo anti- $\alpha\beta6$  ou fragmento de ligação ao  $\alpha\beta6$  do mesmo a uma concentração de 150 mg/ml.

[010] Em certa modalidade, a composição compreende Arg.HCl a uma concentração de 50 mM a 250 mM. Em outra modalidade, a composição compreende Arg.HCl a uma concentração de 100 mM a 200 mM. Em outras modalidades, a composição compreende Arg.HCl a uma concentração de 125 mM a 175 mM. Em ainda outra modalidade, em que a composição compreende Arg.HCl a uma concentração de 150 mM.

[011] Em certa modalidade, a composição compreende metionina. Em alguns casos, a composição compreende metionina a uma concentração de 0,5 mM a 30 mM. Em outros casos, em que a composição compreende metionina a uma concentração de 1 mM a 10 mM. Em ainda outros casos, a composição compreende metionina a uma concentração de 5 mM.

[012] Em certa modalidade, a composição compreende Polissorbato-80 (PS80). Em alguns casos, a composição compreende PS80 a uma concentração de 0,01% a 0,1%. Em outros, a composição compreende PS80 a uma concentração de 0,03% a 0,08%. Em ainda



outros casos, a composição compreende PS80 a uma concentração de 0,05%.

[013] Em certa modalidade, a composição compreende citrato de sódio e ácido cítrico. Em certos casos, a composição compreende citrato de sódio e ácido cítrico a uma concentração de 5 mM a 30 mM. Em outros casos, a composição compreende citrato de sódio e ácido cítrico a uma concentração de 15 mM a 25 mM. Em outros casos, a composição compreende citrato de sódio e ácido cítrico a uma concentração de 20 mM.

[014] Em certa modalidade, a composição tem um pH de 5,3 a 5,6. Numa modalidade, a composição tem um pH de 5,5.

[015] Em certas modalidades, a composição compreende um antioxidante contendo tiol. Em alguns casos, o antioxidante contendo tiol é selecionado do grupo que consiste em GSH, GSSG, a combinação de GSH e GSSG, cistina, cisteína e a combinação de cisteína e cistina. Em um exemplo, o antioxidante contendo tiol é GSH. Em um exemplo, o antioxidante contendo tiol é GSSG. Em um exemplo, o antioxidante contendo tiol é GSH e GSSG. Em um exemplo, o antioxidante contendo tiol é cisteína. Em um exemplo, o antioxidante contendo tiol é cistina. Em um exemplo, o antioxidante contendo tiol é cisteína e cistina. Em certas modalidades, o antioxidante contendo tiol está presente na composição a uma concentração de 0,02 mM a 2 mM. Em alguns casos, o antioxidante contendo tiol está presente na composição a uma concentração de 0,2 mM. Em outros casos, o antioxidante contendo tiol está presente na composição a uma concentração de 0,4 mM. Em ainda outros casos, o antioxidante contendo tiol está presente na composição a uma concentração de 1,0 mM. Nos casos em que o antioxidante contendo tiol é GSH e GSSG, o primeiro está presente a uma concentração de 0,4 mM e o último a uma concentração de 0,2 mM. Nos casos em que o antioxidante contendo tiol é cisteína e cistina, o primeiro

está presente a uma concentração de 0,4 mM e o último a uma concentração de 0,2 mM.

[016] Em algumas modalidades, a composição farmacêutica compreende o anticorpo anti- $\alpha\beta 6$  ou o fragmento de ligação ao  $\alpha\beta 6$  do mesmo a uma concentração de 125 mg/ml a 175 mg/ml; Arg.HCl a uma concentração de 125 mM a 175 mM; metionina a uma concentração de 1 mM a 10 mM; citrato de sódio e ácido cítrico a uma concentração de 15 mM a 25 mM; e PS80 a uma concentração de 0,03% a 0,08%. A composição tem um pH de 5,3 a 5,7.

[017] Em algumas modalidades, a composição farmacêutica compreende o anticorpo anti- $\alpha\beta 6$  ou o fragmento de ligação ao  $\alpha\beta 6$  do mesmo a uma concentração de 125 mg/ml a 175 mg/ml; Arg.HCl a uma concentração de 125 mM a 175 mM; metionina a uma concentração de 1 mM a 10 mM; citrato de sódio e ácido cítrico a uma concentração de 15 mM a 25 mM; um antioxidante contendo tiol a uma concentração de 0,02 mM a 2 mM; e PS80 a uma concentração de 0,03% a 0,08%. A composição tem um pH de 5,3 a 5,7.

[018] Em algumas modalidades, a composição farmacêutica compreende o anticorpo anti- $\alpha\beta 6$  ou o fragmento de ligação ao  $\alpha\beta 6$  do mesmo a uma concentração de 125 mg/ml a 175 mg/ml; Arg.HCl a uma concentração de 125 mM a 175 mM; tampão de citrato de sódio (citrato de sódio e ácido cítrico) a uma concentração de 15 mM a 25 mM; um antioxidante contendo tiol a uma concentração de 0,02 mM a 2 mM; e PS80 a uma concentração de 0,03% a 0,08%. A composição tem um pH de 5,3 a 5,7.

[019] Em algumas modalidades, a composição farmacêutica compreende o anticorpo anti- $\alpha\beta 6$  ou o fragmento de ligação ao  $\alpha\beta 6$  do mesmo a uma concentração de 150 mg/ml; Arg.HCl a uma concentração de 150 mM; metionina a uma concentração de 5 mM; citrato de sódio e ácido cítrico a uma concentração de 20 mM; e PS80

a uma concentração de 0,03% a 0,08%. em que a composição tem um pH de 5,5.

[020] Em algumas modalidades, a composição farmacêutica compreende o anticorpo anti- $\alpha\beta 6$  ou o fragmento de ligação ao  $\alpha\beta 6$  do mesmo a uma concentração de 150 mg/ml; Arg.HCl a uma concentração de 150 mM; metionina a uma concentração de 5 mM; citrato de sódio e ácido cítrico a uma concentração de 20 mM; GSH ou cisteína a uma concentração de 0,4 mM; e PS80 a uma concentração de 0,03% a 0,08%. em que a composição tem um pH de 5,5.

[021] Em certas modalidades, o VH consiste em uma sequência pelo menos 80%, pelo menos 90% ou 100% idêntica à SEQ ID NO: 7 e o VL consiste em uma sequência pelo menos 80%, pelo menos 90% ou 100% idêntica à SEQ ID NO: 8.

[022] Em certas modalidades, a cadeia pesada consiste em uma sequência pelo menos 80%, pelo menos 90% ou 100% idêntica à SEQ ID NO: 9 e a cadeia leve consiste em uma sequência pelo menos 80%, pelo menos 90%, ou 100% idêntica à SEQ ID NO: 10;

[023] A divulgação também apresenta métodos de tratamento de uma condição mediada por  $\alpha\beta 6$  em um sujeito humano em necessidade. O método compreende administrar ao sujeito humano uma composição farmacêutica aqui descrita. Em certos casos, a condição mediada por  $\alpha\beta 6$  é fibrose. Em modalidades específicas, a fibrose é fibrose pulmonar, fibrose renal, fibrose hepática ou fibrose cardíaca. Numa modalidade particular, a fibrose é fibrose pulmonar idiopática. Em um outro exemplo, a condição mediada por  $\alpha\beta 6$  é lesão pulmonar aguda. Em um outro exemplo, a condição mediada por  $\alpha\beta 6$  é lesão renal aguda. Em certas modalidades, a composição farmacêutica é administrada por via subcutânea ao sujeito humano. Em alguns casos, o anticorpo anti- $\alpha\beta 6$  ou o fragmento de ligação ao  $\alpha\beta 6$  do mesmo da composição farmacêutica é administrado ao sujeito humano a uma dose

de 40 mg a 64 mg uma vez por semana. Em alguns casos, o anticorpo anti- $\alpha\beta6$  ou o fragmento de ligação ao  $\alpha\beta6$  do mesmo da composição farmacêutica é administrado ao sujeito humano a uma dose de 40 mg uma vez por semana. Em alguns casos, o anticorpo anti- $\alpha\beta6$  ou o fragmento de ligação ao  $\alpha\beta6$  do mesmo da composição farmacêutica é administrado ao sujeito humano a uma dose de 48 mg uma vez por semana. Em alguns casos, o anticorpo anti- $\alpha\beta6$  ou o fragmento de ligação ao  $\alpha\beta6$  do mesmo da composição farmacêutica é administrado ao sujeito humano a uma dose de 56 mg uma vez por semana. Em alguns casos, o anticorpo anti- $\alpha\beta6$  ou o fragmento de ligação ao  $\alpha\beta6$  do mesmo da composição farmacêutica é administrado ao sujeito humano a uma dose de 64 mg uma vez por semana. Em alguns casos, o anticorpo anti- $\alpha\beta6$  ou o fragmento de ligação ao  $\alpha\beta6$  do mesmo da composição farmacêutica é administrado ao sujeito humano a uma dose de 0,5 mg/kg a 0,8 mg/kg uma vez por semana. Em certos casos, o anticorpo anti- $\alpha\beta6$  ou o fragmento de ligação ao  $\alpha\beta6$  do mesmo da composição farmacêutica é administrado ao sujeito humano a uma dose de 0,5 mg/kg uma vez por semana. Em certos casos, o anticorpo anti- $\alpha\beta6$  ou o fragmento de ligação ao  $\alpha\beta6$  do mesmo da composição farmacêutica é administrado ao sujeito humano a uma dose de 0,6 mg/kg uma vez por semana. Em certos casos, o anticorpo anti- $\alpha\beta6$  ou o fragmento de ligação ao  $\alpha\beta6$  do mesmo da composição farmacêutica é administrado ao sujeito humano a uma dose de 0,7 mg/kg uma vez por semana. Em outros casos, o anticorpo anti- $\alpha\beta6$  ou o fragmento de ligação ao  $\alpha\beta6$  do mesmo da composição farmacêutica é administrado ao sujeito humano a uma dose de 0,8 mg/kg uma vez por semana.

[024] Em outro aspecto, a divulgação fornece um método de tratamento de uma condição mediada por  $\alpha\beta6$  selecionada do grupo que consiste em fibrose, lesão pulmonar aguda e lesão renal aguda em um sujeito humano em necessidade da mesma. O método compreende

a administração subcutânea ao sujeito humano de um anticorpo anti- $\alpha\beta6$  ou o fragmento de ligação ao  $\alpha\beta6$  do mesmo a uma dose de 40 mg a 64 mg uma vez por semana. O anticorpo anti- $\alpha\beta6$  ou o fragmento de ligação ao  $\alpha\beta6$  do mesmo compreende uma VH e uma VL. A VH compreende VH-CDRs, em que VH-CDR1 compreende ou consiste na sequência de aminoácidos apresentada na SEQ ID NO: 1 ou 11; VH-CDR2 compreende ou consiste na sequência de aminoácidos apresentada na SEQ ID NO: 2; e VH-CDR3 compreende ou consiste na sequência de aminoácidos apresentada na SEQ ID NO: 3; e VL-CDRs, em que VL-CDR1 compreende ou consiste na sequência de aminoácidos apresentada na SEQ ID NO: 4; VL-CDR2 compreende ou consiste na sequência de aminoácidos apresentada na SEQ ID NO: 5; e VL-CDR3 compreende ou consiste na sequência de aminoácidos apresentada na SEQ ID NO: 6. Em certos casos, a dose é de 40 mg uma vez por semana. Em certos casos, a dose é de 48 mg uma vez por semana. Em certos casos, a dose é de 56 mg uma vez por semana. Em certos casos, a dose é de 64 mg uma vez por semana. Em certos casos, o sujeito humano é administrado com pelo menos 4 doses do anticorpo anti- $\alpha\beta6$  ou o fragmento de ligação ao antígeno do mesmo. Em outros casos, o sujeito humano é administrado com pelo menos 7 doses do anticorpo anti- $\alpha\beta6$  ou o fragmento de ligação ao antígeno do mesmo. Em ainda outros casos, o sujeito humano é administrado com pelo menos 10 doses do anticorpo anti- $\alpha\beta6$  ou o fragmento de ligação ao antígeno do mesmo. Em alguns casos, o VH consiste em uma sequência pelo menos 80%, pelo menos 90% ou 100% idêntica à SEQ ID NO: 7 e o VL consiste em uma sequência pelo menos 80%, pelo menos 90% ou 100% idêntica à SEQ ID NO: 8. Em alguns casos, o anticorpo anti- $\alpha\beta6$  compreende uma cadeia pesada de imunoglobulina e uma cadeia leve de imunoglobulina, em que a cadeia pesada consiste em uma sequência de pelo menos 80%, pelo menos 90% ou 100% idêntica à

SEQ ID NO: 9 e a cadeia leve consiste em uma sequência pelo menos 80%, pelo menos 90% ou 100% idêntica à SEQ ID NO: 10. Em certos casos, a condição é fibrose. Em modalidades específicas, a fibrose é fibrose pulmonar, fibrose renal, fibrose hepática ou fibrose cardíaca. Numa modalidade particular, a fibrose é fibrose pulmonar idiopática. Em um outro exemplo, a condição é lesão pulmonar aguda. Em um outro exemplo, a condição é lesão renal aguda.

[025] Em outro aspecto, a divulgação apresenta uma seringa ou bomba compreendendo uma preparação estéril de uma composição farmacêutica aqui descrita, em que a seringa ou bomba é adaptada para administração subcutânea do anticorpo anti- $\alpha\beta 6$  ou fragmento de ligação ao  $\alpha\beta 6$  do mesmo, a uma dose fixa de 40 mg, 48 mg, 56 mg ou 64 mg. Em certos casos, a seringa ou bomba compreende 0,5 a 5,0 mL de uma preparação estéril de uma composição farmacêutica aqui descrita. Em certos casos, a seringa ou bomba compreende 0,5 a 1,0 mL de uma preparação estéril de uma composição farmacêutica aqui descrita. Em uma modalidade específica, a divulgação apresenta uma seringa ou bomba compreendendo 0,8 ml de uma formulação de 70 mg/ml compreendendo o anticorpo anti- $\alpha\beta 6$  ou o fragmento de ligação ao  $\alpha\beta 6$  do mesmo. Em uma modalidade específica, a divulgação apresenta uma seringa ou bomba compreendendo 0,8 ml de formulação compreendendo o anticorpo anti- $\alpha\beta 6$  ou o fragmento de ligação ao  $\alpha\beta 6$  do mesmo em uma dose fixa de 56 mg. Em certos casos, a bomba é uma bomba LVSC.

[026] Em outro aspecto, a divulgação apresenta uma seringa ou bomba compreendendo uma preparação estéril de um anticorpo anti- $\alpha\beta 6$  ou o fragmento de ligação ao  $\alpha\beta 6$  do mesmo. A seringa ou bomba é adaptada para administração subcutânea do anticorpo anti- $\alpha\beta 6$  ou o fragmento de ligação ao  $\alpha\beta 6$  do mesmo, a uma dose fixa de 40 mg, 48 mg, 56 mg ou 64 mg. O anticorpo anti- $\alpha\beta 6$  ou o fragmento de ligação

ao  $\alpha\beta 6$  do mesmo compreende uma VH e uma VL. As VH-CDRs compreendem VH-CDR1 que consiste na sequência de aminoácidos apresentada na SEQ ID NO: 1 ou 11; VH-CDR2 que consiste na sequência de aminoácidos apresentada na SEQ ID NO: 2; e VH-CDR3 que consiste na sequência de aminoácidos apresentada na SEQ ID NO: 3. As VL-CDRs compreendem VL-CDR1 que consiste na sequência de aminoácidos apresentada na SEQ ID NO: 4; VL-CDR2 que consiste na sequência de aminoácidos apresentada na SEQ ID NO: 5; e VL-CDR3 que consiste na sequência de aminoácidos apresentada na SEQ ID NO: 6. Em certos casos, o VH consiste em uma sequência pelo menos 80%, pelo menos 90% ou 100% idêntica à SEQ ID NO: 7 e o VL consiste em uma sequência pelo menos 80%, pelo menos 90% ou 100% idêntica à SEQ ID NO: 8. Em alguns casos, o anticorpo anti- $\alpha\beta 6$  compreende uma cadeia pesada de imunoglobulina e uma cadeia leve de imunoglobulina, em que a cadeia pesada consiste em uma sequência de pelo menos 80%, pelo menos 90% ou 100% idêntica à SEQ ID NO: 9 e a cadeia leve consiste em uma sequência pelo menos 80%, pelo menos 90% ou 100% idêntica à SEQ ID NO: 10.

[027] Em outro aspecto, a divulgação apresenta um regime de tratamento combinado que compreende uma composição farmacêutica aqui descrita e prifenidona.

[028] Em ainda outro aspecto, a divulgação apresenta um regime de tratamento combinado que compreende uma composição farmacêutica aqui descrita e nintedanibe.

[029] Salvo definição em contrário, todos os termos técnicos e científicos utilizados neste documento têm o mesmo significado como comumente entendido por um versado na técnica à qual esta invenção pertence. Embora os métodos e materiais semelhantes ou equivalentes aos descritos neste documento possam ser usados na prática ou teste da presente invenção, os métodos e materiais exemplificativos

adequados são descritos a seguir. Todas as publicações, pedidos de patentes, patentes e outras referências mencionadas neste documento estão incorporadas por referência em suas totalidades. Em caso de conflito, o presente pedido, incluindo definições contidas, prevalecerá. Os materiais, métodos e exemplos são apenas ilustrativos e não pretendem ser limitativos.

[030] Outras características e vantagens da invenção serão evidentes a partir da seguinte descrição detalhada e das reivindicações.

#### Breve Descrição dos Desenhos

[031] **A FIG. 1A** é um gráfico que representa a % de agregação total, conforme determinado por cromatografia de exclusão por tamanho (SEC) de formulações de 150 g/L STX-100 com diferentes excipientes.

[032] **A FIG. 1B** é um gráfico de barras que mostra o total de partículas subvisíveis por mL de formulações de 150 g/L STX-100 com diferentes excipientes. Para cada formulação testada, T=0 é representado como a barra esquerda e T = 4 semanas é representado como a barra direita.

[033] **A FIG. 1C** é um gráfico de barras que mostra a viscosidade à temperatura ambiente de formulações de 150 g/L STX-100 com diferentes excipientes.

[034] **A FIG. 2** é um gráfico de barras que mostra os resultados de um estudo de triagem de pH-arginina. Para cada formulação testada, T=0 é representado como a barra esquerda e T=1M 40°C é representado como a barra direita.

[035] **A FIG. 3** é um gráfico que mostra o efeito do GSH na agregação de formulações STX-100 em 25°C (superior) e 40°C (inferior). As formulações STX-100 contêm 150 mg/ml de STX-100, 20 mM de citrato/ácido cítrico, cloridrato de arginina 150 mM, metionina 5 mM, PS80 a 0,05% e um pH de 5,5 e nenhum GSH ou 0,4 mM e GSH.

[036] **A FIG. 4** fornece gráficos que mostram a porcentagem de



espécies HMW de SB4 (BENEPALI®, uma formulação de referência bioequivalente de etanercept Enbrel®) (50 mg/ml SB4; 10 mM de fosfato de sódio; 140 mM de NaCl; 1% de sacarose, pH 6.2) com ou sem GSH (0,4mM) a 25°C e 40°C.

[037] **A FIG. 5** fornece gráficos que mostram a porcentagem de espécies HMW de uma formulação de anticorpo anti- $\alpha\beta 5$  integrina (STX200) (50 mg/ml de anticorpo; 20 mM de histidina; 5% de sorbitol; 0,05% de PS80, pH 6,5) com ou sem GSH (0,4mM) a 25°C e 40°C.

#### Descrição Detalhada

[038] Este pedido fornece composições farmacêuticas e regimes de dosagem de anticorpos anti- $\alpha\beta 6$  e fragmentos de ligação ao  $\alpha\beta 6$  dos mesmos e seu uso no tratamento de doenças como, mas não limitado a, fibrose, lesão pulmonar aguda, lesão renal aguda e câncer.

#### **$\alpha\beta 6$**

[039]  $\alpha\beta 6$  é uma integrina que é expressa nas células epiteliais. Ele pode se ligar a vários ligandos, incluindo fibronectina, vitronectina, citotactina, tenascina e o peptídeo associado à latência - 1 e -3 (LAP1 e LAP3) - os 278 aminoácidos N-terminais da forma precursora latente do TGF- $\beta 1$  - através de uma interação direta com um motivo de arginina-glicina-aspartato ("RGD"). A citocina TGF- $\beta$  é sintetizada como um complexo latente que tem o LAP do N-terminal associado não covalentemente à citocina de TGF- $\beta$  C-terminal ativa madura. O complexo TGF- $\beta$  latente não pode se ligar ao seu receptor cognato e, portanto, não é biologicamente ativo até que seja convertido em uma forma ativa. A ligação de  $\alpha\beta 6$  ao LAP1 ou LAP3 leva à ativação da forma precursora latente de TGF- $\beta 1$  e TGF- $\beta 3$  como resultado de uma alteração conformacional no complexo latente, permitindo que o TGF- $\beta$  se ligue ao seu receptor. Assim, a expressão regulada de  $\alpha\beta 6$  pode levar à ativação local de TGF- $\beta$ , que por sua vez pode ativar uma cascata de eventos de eventos a jusante. A citocina TGF- $\beta 1$  é um fator de

crescimento pleiotrópico que regula a proliferação celular, diferenciação e respostas imunes.

[040] A sequência de aminoácidos da integrina humana  $\alpha$  (UniProtKB - P06756 (ITAV\_HUMAN)) é mostrada abaixo (a sequência peptídica de sinal de 30 aa está sublinhada):

10	20	30	40	50
<u>MAFPPRRRLR LGPRGLPLLL SGLLLPLCRA</u> FNLDVDSPA E YSGPEGSYFG				
60	70	80	90	100
FAVDFFVPSA SSRMFLLVGA PKANTTQPGI VEGGQVLKCD WSSTRRCQPI				
110	120	130	140	150
EFDATGNRDY AKDDPLEFKS HQWFGASVRS KQDKILACAP LYHWRTEMKQ				
160	170	180	190	200
EREPVGTCTFL QDGTKTVEYA PCRSQDIDAD GQGFCQGGFS IDFTKADRVL				
210	220	230	240	250
LGGPGSFYWQ GQLISDQVAE IVSKYDPNVY SIKYNNQLAT RTAQAIFFDS				
260	270	280	290	300
YLGYSVAVGD FNGDGIDDFV SGVPRAARTL GMVYIYDGKN MSSLYNFTGE				
310	320	330	340	350
QMAAYFGFSV AATDINGDDY ADVFIGAPLF MDRGSDGKLQ EVGQVSVSLQ				
360	370	380	390	400
RASGDFQTTK LNGFEVFARF GSAIAPLGDL DQDGFNDIAI AAPYGGEDKK				
410	420	430	440	450
GIVYIFNGRS TGLNAVPSQI LEGQWAARSM PPSFGYSMKG ATDIDKNGYP				
460	470	480	490	500
DLIVGAFGVD RAILYRARPV ITVNAGLEVY PSILNQDNKT CSLPGTALKV				
510	520	530	540	550
SCFNVRFCLK ADGKGVLPK LNFQVELLLD KLKQKGAIRR ALFLYSRSPS				
560	570	580	590	600
HSKNMTISRG GLMQCEELIA YLRDESEFRD KLTPITIFME YRLDYRTAAD				
610	620	630	640	650
TTGLQPILNQ FTPANISRQA HILLDCGEDN VCKPKLEVSV DSDQKKIYIG				
660	670	680	690	700
DDNPLTLIVK AQNQGEGAYE AELIVSIPLQ ADFIGVVRNN EALARLSCAF				
710	720	730	740	750
KTENQTRQVV CDLGNPMKAG TQLLAGLRFS VHQQSEMDTS VKFDLQIQSS				
760	770	780	790	800
NLFDKVSPVV SHKVDLAVLA AVEIRGVSSP DHVFLPIPNW EHKENPETEE				
810	820	830	840	850
DVGPVQHIY ELRNNGPSSF SKAMLHLQWP YKYNNTLLY ILHYDIDGPM				
860	870	880	890	900
NCTSDMEINP LRIKISSLT TEKNDTVAGQ GERDHLITKR DLALSEGDIH				
910	920	930	940	950
TLGCGVAQCL KIVCQVGRLD RGKSAILYVK SLLWTETFMN KENQNHSSYL				
960	970	980	990	1000
KSSASFNVIE FPKNLPID ITNSTLVTTN VTWGIQAPM PVPVWVILA				
1010	1020	1030	1040	
VLAGLLLLAV LVFVMYRMGF FKRVRPPQEE QEREQLQPHE NGEENSET (SEQ ID NO:12)				

A proteína  $\alpha$ v madura corresponde aos aminoácidos 31-1048 da SEQ ID NO: 12.

[041] A sequência de aminoácidos da integrina  $\beta$ 6 humana (UniProtKB - P18564 (ITB6\_HUMAN)) é fornecida abaixo (a sequência peptídica de sinal de 21 aa está sublinhada):

10	20	30	40	50
<u>MGIELLCLEFF</u>	<u>LFLGRNDHVQ</u>	GGCALGGAET	CEDCLLIGPQ	CAWCAQENFT
60	70	80	90	100
HPSGVGERCD	TPANLLAKGC	QLNFIENPVS	QVEILKNKPL	SVGRQKNSSD
110	120	130	140	150
IVQIAPQSLI	LKLRPGGAQT	LQVHVRQTED	YPVDLYYLM	LSASMDDDL
160	170	180	190	200
TIKELGSRLS	KEMSKLTSNF	RLGFGSFVEK	PVSPFVKTP	EEIANPCSSI
210	220	230	240	250
PYFCLPTFGF	KHILPLTND	ERFNEIVKNQ	KISANIDTPE	GGFDAIMQAA
260	270	280	290	300
VCKEKIGWRN	DSLHLLVFS	DADSHFGMDS	KLIVIPND	GLCHLDSKNE
310	320	330	340	350
YSMSTVLEYP	TIGQLIDKLV	QNNVLLIFAV	TQEQVHLYEN	YAKLIPGATV
360	370	380	390	400
GLLQKDSGNI	LQLIISAYEE	LRSEVELEVL	GDTEGLNLSF	TAICNNGTLF
410	420	430	440	450
QHQQKCSHMK	VGDTASFVST	VNIPHCERRS	RHIIKPVGL	GDALELLVSP
460	470	480	490	500
ECNCDCQKEV	EVNSSKCHHG	NGSFQCGVCA	CHPGHMGPRC	ECGEDMLSTD
510	520	530	540	550
SCKEAPDHPS	CSGRGDCYCG	QCICHLSPYG	NIYGPYCQCD	NFSCVRHKGL
560	570	580	590	600
LCGGNGDCDC	GECVCRSGWT	GEYCNCTTST	DSCVSEGV	CSGRGDCVCG
610	620	630	640	650
KCVCTNPGAS	GPTCERCPTC	GDPCKSKRSC	IECHLSAAGQ	AREECVDKCK
660	670	680	690	700
LAGATISEEE	DFSKDGSVSC	SLQGENECLI	TFLITTDNEG	KTIHSINEK
710	720	730	740	750
DCPKPPNIPM	IMLGVSAIL	LIGVLLCIW	KLLVSFHDRK	EVAKFEAERS
760	770	780		
KAKWQTGTNP	LYRGSTSTFK	NVTYKHREKQ	KVDLSTDC	(SEQ ID NO:13)

[042] A proteína  $\beta$ 6 madura corresponde aos aminoácidos 22-788 da SEQ ID NO: 13.

[043] Os anticorpos aqui descritos podem se ligar especificamente

à proteína  $\alpha\beta 6$  que possui a sequência de aminoácidos apresentada nas posições 31-1048 da SEQ ID NO: 12 e a sequência de aminoácidos apresentada nas posições 22-788 da SEQ ID NO: 13. Em algumas modalidades, os anticorpos aqui descritos podem se ligar especificamente à proteína  $\beta 6$  que possui a sequência de aminoácidos estabelecida nas posições 22-788 da SEQ ID NO: 13.

### **Anticorpos Anti- $\alpha\beta 6$**

[044] Em algumas modalidades, o anticorpo anti- $\alpha\beta 6$  ou o fragmento de ligação ao  $\alpha\beta 6$  do mesmo usado nas composições e métodos aqui descritos compreende as três regiões determinantes de complementaridade (CDRs) de domínio variável de cadeia pesada de um anticorpo referido como "STX-100". Em algumas modalidades, o anticorpo anti- $\alpha\beta 6$  ou o fragmento de ligação ao  $\alpha\beta 6$  do mesmo compreende as três CDRs de domínio variável de cadeia leve de STX-100. Em ainda outras modalidades, o anticorpo anti- $\alpha\beta 6$  ou o fragmento de ligação ao  $\alpha\beta 6$  do mesmo compreende as três CDRs de domínio variável de cadeia pesada e as três CDRs de domínio variável de cadeia leve de STX-100. As CDRs podem ser baseadas em qualquer definição de CDR conhecida na técnica, *por exemplo*, nas definições de Kabat, Chothia, Chothia da Abysis, Chothia/AbM intensificada ou com base na definição de contato. Sequências de CDR exemplificativas de STX-100 (de acordo com Kabat) são fornecidas na Tabela 1 abaixo.

**Tabela 1:** Sequências das CDRs Kabat de STX-100

<b>Domínio</b>	<b>CDR</b>
VH CDR1	RYVMS ( <b>SEQ ID NO:1</b> )
VH CDR2	SISSGGRMYYPDTVKG ( <b>SEQ ID NO:2</b> )
VH CDR3	GSIDGYVFPY ( <b>SEQ ID NO:3</b> )
VL CDR1	SASSSVSSSYLY ( <b>SEQ ID NO:4</b> )
VL CDR2	STSNLAS ( <b>SEQ ID NO: 5</b> )
VL CDR3	HQWSTYPPT ( <b>SEQ ID NO:6</b> )

[045] Em alguns aspectos, o anticorpo anti- $\alpha\beta6$  ou o fragmento de ligação ao  $\alpha\beta6$  do mesmo compreende uma VH CDR1 compreendendo ou consistindo na sequência de aminoácidos apresentada na SEQ ID NO: 1 ou GFTFSRYVMS (**SEQ ID NO: 11**), uma VH CDR2 compreendendo ou consistindo na sequência de aminoácidos apresentada na SEQ ID NO: 2; e um VH CDR3 compreendendo ou consistindo na sequência de aminoácidos apresentada na SEQ ID NO: 3. Em algumas modalidades, o anticorpo anti- $\alpha\beta6$  ou o fragmento de ligação ao  $\alpha\beta6$  do mesmo compreende uma VL CDR1 compreendendo ou consistindo na sequência de aminoácidos apresentada na SEQ ID NO: 4, uma VL CDR2 compreendendo ou consistindo na sequência de aminoácidos apresentada na SEQ ID NO: 5; e uma VL CDR3 compreendendo ou consistindo na sequência de aminoácidos apresentada na SEQ ID NO: 6.

[046] Em certos aspectos, o anticorpo anti- $\alpha\beta6$  ou o fragmento de ligação ao  $\alpha\beta6$  do mesmo compreende as CDRs compreendendo as sequências de aminoácidos apresentada nas SEQ ID NOs: 1 a 6. Em certos aspectos, o anticorpo anti- $\alpha\beta6$  ou o fragmento de ligação ao  $\alpha\beta6$  do mesmo compreende as CDRs compreendendo as sequências de aminoácidos apresentadas nas SEQ ID NOs: 11, 2, 3, 4, 5 e 6. Em certos aspectos, o anticorpo anti- $\alpha\beta6$  ou o fragmento de ligação ao  $\alpha\beta6$  do mesmo compreende as CDRs que consistem nas sequências de aminoácidos apresentadas nas SEQ ID NOs: 1 a 6. Em certos aspectos, o anticorpo anti- $\alpha\beta6$  ou o fragmento de ligação ao  $\alpha\beta6$  do mesmo compreende as CDRs consistindo nas sequências de aminoácidos apresentadas nas SEQ ID NOs: 11, 2, 3, 4, 5 e 6.

[047] STX-100 é um anticorpo monoclonal humanoIgG1/capa humano humanizado que se liga especificamente à integrina  $\alpha\beta6$ .

[048] O domínio variável de cadeia pesada (VH) de STX-100 compreende ou consiste na seguinte sequência de aminoácidos (VH

CDRs (definição de Kabat) em negrito):

```
1    EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS RYVMSWVRQA PGKGLEWVAS
51   ISSGGRMYYP DTVKGRFTIS RDNAKNSLYL QMNSLRAEDT AVYYCARGSI
101  YDGYVFPYW GQGTLVTVSS (SEQ ID NO:7)
```

[049] O domínio variável de cadeia leve (VL) de STX-100 compreende ou consiste na seguinte sequência de aminoácidos (VL CDRs (definição de Kabat) em negrito):

```
1    EIVLTQSPAT LSLSPGERAT LSCSASSSVS SSYLYWYQOK PGQAPRLLIY
51   STSNLASGIP ARFSGSGSGT DFTLTISSE PEDFAVYYCH QWSTYPPTFG
101  GGTKVEIK (SEQ ID NO:8)
```

[050] Em certas modalidades, o anticorpo anti- $\alpha\beta 6$  ou o fragmento de ligação ao  $\alpha\beta 6$  do mesmo compreende um VH compreendendo ou consistindo na sequência de aminoácidos apresentada na SEQ ID NO: 7. Em algumas modalidades, o anticorpo anti- $\alpha\beta 6$  ou o fragmento de ligação ao  $\alpha\beta 6$  do mesmo se liga seletivamente ao  $\alpha\beta 6$  e compreende um domínio VH que é pelo menos 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93 %, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% ou mais idêntico à sequência de aminoácidos do domínio VH de STX-100 (SEQ ID NO: 7) ou difere pelo menos de 1 a 5 resíduos de aminoácidos, mas com menos que 40, 30, 20, 15 ou 10, resíduos, da SEQ ID NO: 7. Em algumas modalidades, este anticorpo anti- $\alpha\beta 6$  ou os fragmentos de ligação a  $\alpha\beta 6$  do mesmo bloqueiam a ligação de  $\alpha\beta 6$  ao seu ligando, peptídeo associado à latência (LAP), conforme determinado pelo bloqueio da ligação de ligando seja às células h $\alpha\beta 6$  purificadas ou às células que expressam  $\beta 6$ . Em algumas modalidades, esses anticorpos anti- $\alpha\beta 6$  ou o fragmento de ligação ao  $\alpha\beta 6$  dos mesmos possuem uma ou mais (por exemplo, um, dois, três, quatro) dessas propriedades: (i) se ligam especificamente com alta afinidade ao  $\alpha\beta 6$ ; (ii) inibem a ligação de  $\alpha\beta 6$  ao LAP, à fibronectina, à vitronectina ou à tenascina com um valor de IC50 menor que o do anticorpo 10D5 (WO 99/07405); (iii) bloquear ou inibir a ativação de TGF- $\beta$ ; (iv) se ligam especificamente

à subunidade  $\beta 6$ ; e (v) reconhecem  $\alpha\beta 6$  em procedimentos de imunocoloração, como imunocoloração de tecidos embebidos em parafina.

[051] Em certas modalidades, o anticorpo anti- $\alpha\beta 6$  ou o fragmento de ligação ao  $\alpha\beta 6$  do mesmo compreende um VL compreendendo ou consistindo na sequência de aminoácidos apresentada na SEQ ID NO: 8. Em algumas modalidades, o anticorpo anti- $\alpha\beta 6$  ou o fragmento de ligação ao  $\alpha\beta 6$  do mesmo se liga seletivamente ao  $\alpha\beta 6$  e compreende um domínio VL que é pelo menos 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93 %, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% ou mais idêntico à sequência de aminoácidos do domínio VL de STX-100 (SEQ ID NO: 8) ou difere pelo menos de 1 a 5 resíduos de aminoácidos, mas com menos que 40, 30, 20, 15 ou 10, resíduos, da SEQ ID NO: 8. Em algumas modalidades, este anticorpo anti- $\alpha\beta 6$  ou os fragmentos de ligação a  $\alpha\beta 6$  do mesmo bloqueiam a ligação de  $\alpha\beta 6$  ao seu ligando, peptídeo associado à latência (LAP), conforme determinado pelo bloqueio da ligação de ligando seja às células h $\alpha\beta 6$  purificadas ou às células que expressam  $\beta 6$ . Em algumas modalidades, esses anticorpos anti- $\alpha\beta 6$  ou o fragmento de ligação ao  $\alpha\beta 6$  dos mesmos possuem uma ou mais (por exemplo, um, dois, três, quatro) dessas propriedades: (i) se ligam especificamente com alta afinidade ao  $\alpha\beta 6$ ; (ii) inibem a ligação de  $\alpha\beta 6$  ao LAP, à fibronectina, à vitronectina ou à tenascina com um valor de IC50 menor que o do anticorpo 10D5 (WO 99/07405); (iii) bloquear ou inibir a ativação de TGF- $\beta$ ; (iv) se ligam especificamente à subunidade  $\beta 6$ ; e (v) reconhecem  $\alpha\beta 6$  em procedimentos de imunocoloração, como imunocoloração de tecidos embebidos em parafina.

[052] Em algumas modalidades, o anticorpo anti- $\alpha\beta 6$  ou o fragmento de ligação ao  $\alpha\beta 6$  do mesmo compreende um VH com a sequência de aminoácidos estabelecida na SEQ ID NO: 7 e um VL com a sequência de aminoácidos estabelecida na SEQ ID NO: 8. Em

algumas modalidades, o anticorpo anti- $\alpha\beta 6$  ou o fragmento de ligação ao  $\alpha\beta 6$  do mesmo se liga seletivamente ao  $\alpha\beta 6$  e compreende (i) um domínio VH que é pelo menos 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% ou mais idêntico à sequência de aminoácidos do domínio VH de STX-100 (SEQ ID NO:7), e (ii) um domínio VL que é pelo menos 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% ou mais idêntico à sequência de aminoácidos do domínio VL de STX-100 (SEQ ID NO: 8); ou difere pelo menos em 1 a 5 resíduos de aminoácidos, mas em menos de 40, 30, 20, 15 ou 10 resíduos da SEQ ID NO: 7 e/ou SEQ ID NO: 8. Em algumas modalidades, este anticorpo anti- $\alpha\beta 6$  ou os fragmentos de ligação a  $\alpha\beta 6$  do mesmo bloqueiam a ligação de  $\alpha\beta 6$  ao seu ligando, peptídeo associado à latência (LAP), conforme determinado pelo bloqueio da ligação de ligando seja às células h $\alpha\beta 6$  purificadas ou às células que expressam  $\beta 6$ . Em algumas modalidades, esses anticorpos anti- $\alpha\beta 6$  ou o fragmento de ligação ao  $\alpha\beta 6$  dos mesmos possuem uma ou mais (por exemplo, um, dois, três, quatro) dessas propriedades: (i) se ligam especificamente com alta afinidade ao  $\alpha\beta 6$ ; (ii) inibem a ligação de  $\alpha\beta 6$  ao LAP, à fibronectina, à vitronectina ou à tenascina com um valor de IC<sub>50</sub> menor que o do anticorpo 10D5 (WO 99/07405); (iii) bloquear ou inibir a ativação de TGF- $\beta$ ; (iv) se ligam especificamente à subunidade  $\beta 6$ ; e (v) reconhecem  $\alpha\beta 6$  em procedimentos de imunocoloração, como imunocoloração de tecidos embebidos em parafina.

[053] Um anticorpo que consiste na cadeia pesada madura (SEQ ID NO: 9) e na cadeia leve madura (SEQ ID NO: 10) listadas abaixo é denominado "STX-100" ou "BG00011" ou "BG11". STX-100 é um anticorpo IgG1/capa.

**Cadeia pesada de STX-100 madura (HC)** [H-CDR1, H-CDR2 e H-CDR3 estão em negrito; região constante sublinhada; sítios de glicosilação ligado a N em negrito e sublinhado]



```

1    EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS RYVMSWVRQA PGKGLEWVAS
51   ISSGGRMYYP DTVKGRFTIS RDNAKNSLYL QMNSLRAEDT AVYYCARGSI
101 YDGYVVFYPYW GQGTLVTVSS ASTKGPSVFP LAPSSKSTSG GTAALGCLVK
151 DYFPEPVTVS WNSGALTSGV HTEPAVLOSS GLYSLSSVVT VPSSSLGTQT
201 YICNVNHKPS NTKVDKKVEP KSCDKTHTCP PCPAPELLGG PSVFLFPPKP
251 KDTLMISRTP EVTCVVVDVS HEDPEVKFNW YVDGVEVHNA KTKPREEQYN
301 STYRVVSVLT VLHODWLNGK EYKCKVSNKA LPAPIEKTIS KAKGOPREPO
351 VYTLPPSRDE LTKNOVSLTC LVKGFYPSDI AVEWESNGOP ENNYKTTTPV
401 LDSDGSFFLY SKLTVDKSRW QQGNVFSCSV MHEALHNHYT QKSLSLSPG
      (SEQ ID NO:9)

```

**Cadeia leve de STX-100 madura (LC) [L-CDR1, L-CDR2 e L-CDR3 estão em negrito; região constante sublinhada]**

```

1    EIVLTQSPAT LSLSPGERAT LSCSASSSVS SSYLYWYQQK PGQAPRLLIY
51   STSNLASGIP ARFSGSGSGT DFTLTISSE PEDFAVYYCH QWSTYPTFG
101 GGTKVEIKRT VAAPSVFIEP PSDEQLKSGT ASVVCLLNNE YPBREAKVQWK
151 VDNALQSGNS QESVTEQDSK DSTYSLSTL TLSKADYEKH KVIACEVTHQ
201 GLSSPVTKSF NRGEC (SEQ ID NO:10)

```

[054] Em certas modalidades, o anticorpo anti- $\alpha\beta 6$  ou o fragmento de ligação ao  $\alpha\beta 6$  do mesmo compreende um HC tendo a sequência de aminoácidos apresentada na SEQ ID NO: 9. Em algumas modalidades, o anticorpo anti- $\alpha\beta 6$  ou o fragmento de ligação ao  $\alpha\beta 6$  do mesmo se liga seletivamente ao  $\alpha\beta 6$  e compreende um HC que é pelo menos 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93 %, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% ou mais idêntico à sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 9, ou difere pelo menos de 1 a 5 resíduos de aminoácidos, mas com menos que 40, 30, 20, 15 ou 10, resíduos, da SEQ ID NO: 9. Em certas modalidades, o anticorpo anti- $\alpha\beta 6$  ou o fragmento de ligação  $\alpha\beta 6$  do mesmo compreende uma cadeia pesada apresentada na SEQ ID NO: 9, exceto por 1 a 5 substituições de aminoácidos na região constante de cadeia pesada. Em algumas modalidades, esses anticorpos anti- $\alpha\beta 6$  ou o fragmento de ligação ao  $\alpha\beta 6$  dos mesmos bloqueiam a ligação de  $\alpha\beta 6$  ao seu ligando, peptídeo associado à latência (LAP), conforme determinado pelo bloqueio da ligação ao ligando tanto às células h $\alpha\beta 6$  purificadas quanto às células que expressam  $\beta 6$ . Em algumas modalidades, esses anticorpos anti- $\alpha\beta 6$

ou o fragmento de ligação ao  $\alpha\beta 6$  dos mesmos possuem uma ou mais (por exemplo, um, dois, três, quatro) dessas propriedades: (i) se ligam especificamente com alta afinidade ao  $\alpha\beta 6$ ; (ii) inibem a ligação de  $\alpha\beta 6$  ao LAP, à fibronectina, à vitronectina ou à tenascina com um valor de IC50 menor que o do anticorpo 10D5 (WO 99/07405); (iii) bloquear ou inibir a ativação de TGF- $\beta$ ; (iv) se ligam especificamente à subunidade  $\beta 6$ ; e (v) reconhecem  $\alpha\beta 6$  em procedimentos de imunocoloração, como imunocoloração de tecidos embebidos em parafina.

[055] Em certas modalidades, o anticorpo anti- $\alpha\beta 6$  ou o fragmento de ligação ao  $\alpha\beta 6$  do mesmo compreende um LC tendo a sequência de aminoácidos apresentada na SEQ ID NO: 10. Em algumas modalidades, o anticorpo anti- $\alpha\beta 6$  ou o fragmento de ligação ao  $\alpha\beta 6$  do mesmo se liga seletivamente ao  $\alpha\beta 6$  e compreende um LC que é pelo menos 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93 %, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% ou mais idêntico à sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 10, ou difere pelo menos de 1 a 5 resíduos de aminoácidos, mas com menos que 40, 30, 20, 15 ou 10, resíduos, da SEQ ID NO: 10. Em certas modalidades, o anticorpo anti- $\alpha\beta 6$  ou o fragmento de ligação  $\alpha\beta 6$  do mesmo compreende uma cadeia leve apresentada na SEQ ID NO: 10, exceto por 1 a 5 substituições de aminoácidos na região constante de cadeia leve. Em algumas modalidades, esses anticorpos anti- $\alpha\beta 6$  ou o fragmento de ligação ao  $\alpha\beta 6$  dos mesmos bloqueiam a ligação de  $\alpha\beta 6$  ao seu ligando, peptídeo associado à latência (LAP), conforme determinado pelo bloqueio da ligação ao ligando tanto às células h $\alpha\beta 6$  purificadas quanto às células que expressam  $\beta 6$ . Em algumas modalidades, esses anticorpos anti- $\alpha\beta 6$  ou o fragmento de ligação ao  $\alpha\beta 6$  dos mesmos possuem uma ou mais (por exemplo, um, dois, três, quatro) dessas propriedades: (i) se ligam especificamente com alta afinidade ao  $\alpha\beta 6$ ; (ii) inibem a ligação de  $\alpha\beta 6$  ao LAP, à fibronectina, à vitronectina ou à tenascina com um valor de IC50 menor

que o do anticorpo 10D5 (WO 99/07405); (iii) bloquear ou inibir a ativação de TGF- $\beta$ ; (iv) se ligam especificamente à subunidade  $\beta 6$ ; e (v) reconhecem  $\alpha\beta 6$  em procedimentos de imunocoloração, como imunocoloração de tecidos embebidos em parafina.

[056] Em certas modalidades, o anticorpo anti- $\alpha\beta 6$  ou o fragmento de ligação ao  $\alpha\beta 6$  do mesmo compreende um HC com a sequência de aminoácidos estabelecida na SEQ ID NO: 9 e um LC com a sequência de aminoácidos estabelecida na SEQ ID NO: 10. Em algumas modalidades, o anticorpo anti- $\alpha\beta 6$  ou o fragmento de ligação  $\alpha\beta 6$  do mesmo se liga seletivamente ao  $\alpha\beta 6$  humano e compreende (i) um HC que é pelo menos 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% ou mais idêntico à sequência de aminoácidos da SEQ ID NO: 9 ou difere pelo menos de 1 a 5 resíduos de aminoácidos, mas em menos de 40, 30, 20, 15 ou 10 resíduos da SEQ ID NO: 9 ; e (ii) um LC que é pelo menos 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% ou mais idêntico à sequência de aminoácidos da SEQ ID NO: 10, ou difere pelo menos de 1 a 5 resíduos de aminoácidos, mas em menos que 40, 30, 20, 15 ou 10 resíduos da SEQ ID NO: 10. Em algumas modalidades, esses anticorpos anti- $\alpha\beta 6$  ou o fragmento de ligação ao  $\alpha\beta 6$  dos mesmos bloqueiam a ligação de  $\alpha\beta 6$  ao seu ligando, peptídeo associado à latência (LAP), conforme determinado pelo bloqueio da ligação ao ligando tanto às células h $\alpha\beta 6$  purificadas quanto às células que expressam  $\beta 6$ . Em algumas modalidades, esses anticorpos anti- $\alpha\beta 6$  ou o fragmento de ligação ao  $\alpha\beta 6$  dos mesmos possuem uma ou mais (por exemplo, um, dois, três, quatro) dessas propriedades: (i) se ligam especificamente com alta afinidade ao  $\alpha\beta 6$ ; (ii) inibem a ligação de  $\alpha\beta 6$  ao LAP, à fibronectina, à vitronectina ou à tenascina com um valor de IC<sub>50</sub> menor que o do anticorpo 10D5 (WO 99/07405); (iii) bloquear ou inibir a ativação de TGF- $\beta$ ; (iv) se ligam especificamente à

subunidade  $\beta 6$ ; e (v) reconhecem  $\alpha \nu \beta 6$  em procedimentos de imunocoloração, como imunocoloração de tecidos embebidos em parafina.

[057] Em certas modalidades, o anticorpo anti- $\alpha \nu \beta 6$  é um anticorpo IgG. Em modalidades específicas, o anticorpo anti- $\alpha \nu \beta 6$  possui a região constante de cadeia pesada escolhida entre, por exemplo, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgM, IgA1, IgA2, IgD e IgE. Numa modalidade, o anticorpo anti- $\alpha \nu \beta 6$  é do isotipo IgG1 humano. Numa outra modalidade, o anticorpo anti- $\alpha \nu \beta 6$  é do isotipo IgG2 humano. Em ainda outra modalidade, o anticorpo anti- $\alpha \nu \beta 6$  é do isotipo IgG3 humano. Em ainda outra modalidade, o anticorpo anti- $\alpha \nu \beta 6$  é do isotipo IgG4 humano. Em outras modalidades, o anticorpo tem uma região constante de cadeia leve escolhida de, por exemplo, uma cadeia leve  $\kappa$  humana ou  $\lambda$  humana. Em certas modalidades, o anticorpo anti- $\alpha \nu \beta 6$  é um anticorpo humano IgG1/capa. Em alguns casos, a região constante de cadeia pesada é humana ou uma forma modificada de uma região constante humana. Em certos casos, a região constante humana pode incluir pelo menos 1 e até 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 ou 20 substituições. Numa modalidade particular, a região Fc humana modificada é uma região Fc de IgG1 humana modificada. Em alguns casos, a região constante de um anticorpo anti- $\alpha \nu \beta 6$  é modificada pela mutação de um ou mais resíduos de aminoácidos para conferir uma propriedade funcional desejada (por exemplo, função efetiva alterada ou meia-vida, glicosilação reduzida). Por exemplo, o sítio de glicosilação ligado a N pode ser substituído para impedir ou reduzir a glicosilação ligada a N da região Fc (por exemplo, região Fc de IgG1 humana).

[058] Em algumas modalidades, o anticorpo anti- $\alpha \nu \beta 6$  é um anticorpo de comprimento total (inteiro) ou substancialmente de comprimento total. A proteína pode incluir pelo menos uma, e de preferência duas, cadeias pesadas completas e pelo menos uma, e

preferencialmente duas, cadeias leves completas. Em algumas modalidades, o anticorpo anti- $\alpha\beta 6$  é um fragmento de ligação ao  $\alpha\beta 6$ . Em alguns casos, o fragmento de ligação ao  $\alpha\beta 6$  é um Fab, um Fab', um F(ab')<sub>2</sub>, um Facb, um Fv, uma cadeia única Fv (scFv), um sc (Fv) 2 ou um diacorpo.

[059] Anticorpos, como STX-100, ou fragmentos de ligação ao  $\alpha\beta 6$  dos mesmos, podem ser produzidos, por exemplo, preparando e expressando genes sintéticos que codificam as sequências de aminoácidos recitadas ou mutando genes da linhagem germinativa humana para fornecer um gene que codifica as sequências de aminoácidos recitadas. Além disso, este anticorpo e outros anticorpos anti- $\alpha\beta 6$  podem ser produzidos, *por exemplo*, usando um ou mais dos seguintes métodos.

### **Métodos de Produção de Anticorpos**

[060] Anticorpos anti- $\alpha\beta 6$  ou fragmentos de ligação ao  $\alpha\beta 6$  dos mesmos podem ser produzidos em células bacterianas ou eucarióticas. Alguns anticorpos, *por exemplo*, Fab's, podem ser produzidos em células bacterianas, *por exemplo*, células *E. coli*. Os anticorpos também podem ser produzidos em células eucarióticas, como linhagens celulares transformadas (*por exemplo*, CHO, 293E, COS). Além disso, os anticorpos (*por exemplo*, scFv's) podem ser expressos em uma célula de levedura como *Pichia* (*ver, por exemplo*, Powers et al., *J. Immunol Methods*. 251:123-35 (2001)), *Hanseula*, ou *Saccharomyces*. Para produzir o anticorpo de interesse, um polinucleotídeo que codifica o anticorpo é construído, introduzido em um vetor de expressão e depois expresso em células hospedeiras adequadas. Os polinucleotídeos que codificam um anticorpo anti- $\alpha\beta 6$  compreendendo o VH e/ou VL, HC e/ou LC dos anticorpos  $\alpha\beta 6$  aqui descritos seriam facilmente visualizados pelo versado na técnica. Técnicas padrões de biologia molecular são usadas para preparar o vetor de expressão recombinante,

transfectar as células hospedeiras, selecionar as transformantes, cultivar as células hospedeiras e recuperar o anticorpo.

[061] Se os anticorpos anti- $\alpha\beta 6$  ou fragmentos de ligação ao  $\alpha\beta 6$  forem expressos em células bacterianas (*por exemplo, E. coli*), o vetor de expressão deve ter características que permitam a amplificação do vetor nas células bacterianas. Além disso, quando *E. coli* como JM109, DH5 $\alpha$ , HB101 ou XL1-Blue é usada como hospedeiro, o vetor deve ter um promotor, por exemplo, um promotor de lacZ (Ward et al., 341: 544-546 (1989)), promotor de araB (Better et al., *Science*, 240: 1041-1043 (1988)) ou promotor de T7 que pode permitir a expressão eficiente em *E. coli*. Exemplos de tais vetores incluem, por exemplo, vetores da série M13, vetores da série pUC, pBR322, pBluescript, pCR-Script, pGEX-5X-1 (Pharmacia), "sistema QIAexpress" (QIAGEN), pEGFP e pET (quando este vetor de expressão é usado, o hospedeiro é de preferência BL21 expressando T7 RNA polimerase). O vetor de expressão pode conter uma sequência de sinal para secreção de anticorpos. Para produção no periplasma de *E. coli*, a sequência de sinal *pelB* (Lei et al., *J. Bacteriol.*, 169: 4379 (1987)) pode ser utilizada como a sequência de sinal para secreção de anticorpos. Para expressão bacteriana, podem ser utilizados métodos de cloreto de cálcio ou métodos de eletroporação para introduzir o vetor de expressão na célula bacteriana.

[062] Se o anticorpo deve ser expresso em células animais, como células CHO, COS e NIH3T3, o vetor de expressão inclui um promotor necessário para a expressão nessas células, por exemplo, um promotor SV40 (Mulligan et al., *Nature*, 277:108 (1979)), MMLV-LTR promoter, EF1 $\alpha$  promoter (Mizushima et al., *Nucleic Acids Res.*, 18:5322 (1990)), ou promotor de CMV. Além da sequência de ácido nucleico que codifica a imunoglobulina ou domínio do mesmo, os vetores de expressão recombinante podem realizar sequências adicionais, tais como sequências que regulam a replicação do vetor em células hospedeiras (por

exemplo, as origens de replicação) e genes marcadores selecionáveis. O gene marcador selecionável facilita a seleção de células hospedeiras nas quais o vetor foi introduzido (ver, por exemplo, Pat. U.S. 4.399.216, 4.634.665 e 5.179.017). Por exemplo, normalmente o gene marcador selecionável confere resistência às fármacos, tais como G418, higromicina ou metotrexato, em uma célula hospedeira, na qual o vetor foi introduzido. Exemplos de vetores com marcadores selecionáveis incluem pMAM, pDR2, pBK-RSV, pBK-CMV, pOPRSV e pOP13.

[063] Em uma modalidade, os anticorpos são produzidos em células de mamíferos. Células hospedeiras de mamíferos exemplificativas para expressar um anticorpo incluem ovário de hamster chinês (células CHO) (incluindo células *dhfr*<sup>-</sup> CHO, descritas em Urlaub and Chasin (1980) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 77:4216-4220, usadas com um marcador selecionável de DHFR, por exemplo, como descrito em Kaufman and Sharp (1982) *Mol. Biol.* 159: 601-621), células 293 de rim embrionário humano (por exemplo, 293, 293E, 293T), células COS, células NIH3T3, linhagens celulares linfocíticas, por exemplo, células de mieloma NS0 e células SP2 e uma célula de um animal transgênico, por exemplo, um mamífero transgênico. Por exemplo, a célula é uma célula epitelial mamária.

[064] Em um sistema exemplificativo para expressão de anticorpos, um vetor de expressão recombinante que codifica a cadeia pesada do anticorpo e a cadeia leve do anticorpo de um anticorpo anti- $\alpha\beta 6$  (por exemplo, STX-100) é introduzido em células *dhfr*<sup>-</sup> CHO por transfecção mediada por fosfato de cálcio. Dentro do vetor de expressão recombinante, os genes de cadeia leve e pesada de anticorpo são, cada, operativamente ligados aos elementos reguladores realçadores/promotores (por exemplo, derivado de SV40, CMV, adenovírus e similares, tais como um elemento regulador promotor de AdMLP/ realçador de CMV ou um elemento regulador promotor de AdMLP/ realçador de

SV40) para acionar níveis elevados de transcrição dos genes. O vetor de expressão recombinante também transporta um gene de *DHFR*, que permite a seleção de células de CHO que têm sido transfectadas com o vetor usando seleção/amplificação de metotrexato. As células hospedeiras transformantes selecionadas são cultivadas para permitir a expressão das cadeias leves e pesadas de anticorpo e o anticorpo é recuperado a partir do meio de cultura.

[065] Anticorpos também podem ser produzidos por um animal transgênico. Por exemplo, Patente US 5.849.992 descreve um método para expressar um anticorpo na glândula mamária de um mamífero transgênico. Um transgene é construído incluindo um promotor específico de leite e ácido nucleico codificando o anticorpo de interesse e uma sequência de sinal para a secreção. O leite produzido pelas fêmeas destes mamíferos transgênicos inclui, secretado nele, o anticorpo de interesse. O anticorpo pode ser purificado a partir do leite, ou para algumas aplicações, usado diretamente. Os animais também são fornecidos compreendendo um ou mais dos ácidos nucleicos aqui descritos.

[066] Os anticorpos da presente divulgação podem ser isolados de dentro ou de fora (como meio) da célula hospedeira e purificados como anticorpos substancialmente puros e homogêneos. Métodos para isolamento e purificação comumente usados para purificação de anticorpos podem ser usados para o isolamento e purificação de anticorpos e não estão limitados a nenhum método específico. Os anticorpos podem ser isolados e purificados selecionando e combinando adequadamente, por exemplo, cromatografia em coluna, filtração, ultrafiltração, salga, precipitação com solvente, extração por solvente, destilação, imunoprecipitação, eletroforese em gel de SDS-poliacrilamida, foco isoelétrico, diálise e recristalização. A cromatografia inclui, por exemplo, cromatografia de afinidade, cromatografia de troca iônica, cromatografia



hidrofóbica, filtração em gel, cromatografia de fase reversa e cromatografia de adsorção (Strategies for Protein Purification and Characterization: A Laboratory Course Manual. Ed Daniel R. Marshak et al., Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1996). A cromatografia pode ser realizada utilizando cromatografia em fase líquida, como HPLC e FPLC. As colunas usadas para cromatografia de afinidade incluem coluna de proteína A e coluna de proteína G. Exemplos de colunas usando a coluna de proteína A incluem Hyper D, POROS e Sepharose FF (GE Healthcare Biosciences). A presente divulgação também inclui anticorpos que são altamente purificados usando esses métodos de purificação.

### **Composições de anticorpos anti- $\alpha\beta 6$**

[067] Esta divulgação também fornece composições (*por exemplo*, composições farmacêuticas) compreendendo os anticorpos anti- $\alpha\beta 6$  ou os fragmentos de ligação ao  $\alpha\beta 6$  dos mesmos aqui descritos. Por exemplo, as composições de anticorpo anti- $\alpha\beta 6$  compreendem um anticorpo anti- $\alpha\beta 6$  ou um fragmento de ligação ao  $\alpha\beta 6$  do mesmo, compreendendo um domínio variável de cadeia pesada de imunoglobulina (VH) e um domínio variável de cadeia leve de imunoglobulina (VL), em que o VH compreende as H-CDRs e o VL compreende as L-CDRs de STX-100. Em certos casos, as CDRs de cadeia pesada (H-CDRs) compreendem ou consistem nas sequências de aminoácidos estabelecidas nas SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2 e SEQ ID NO: 3; e as CDRs de cadeia leve (L-CDRs) compreendem ou consistem nas sequências de aminoácidos estabelecidas nas SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5 e SEQ ID NO: 6. Em certos casos, as CDRs da cadeia pesada (H-CDRs) compreendem ou consistem nas sequências de aminoácidos estabelecidas nas SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 2 e SEQ ID NO: 3; e as CDRs da cadeia leve (L-CDRs) compreendem ou consistem nas sequências de aminoácidos estabelecidas nas SEQ ID NO: 4, SEQ ID

NO: 5 e SEQ ID NO: 6. Em algumas modalidades, as composições de anticorpo anti- $\alpha\beta 6$  compreendem um anticorpo anti- $\alpha\beta 6$  ou um fragmento de ligação ao  $\alpha\beta 6$  que compreende (i) um VH compreendendo ou consistindo em uma sequência de aminoácidos que é pelo menos 85%, 90%, 91%, 92 %, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% ou 100% idêntica à sequência de aminoácidos estabelecida na SEQ ID NO: 7; e (ii) um VL compreendendo ou consistindo em uma sequência de aminoácidos que é pelo menos 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% ou 100% idêntica à sequência de aminoácidos apresentada na SEQ ID NO: 8. Em certas modalidades, as composições de anticorpo anti- $\alpha\beta 6$  compreendem um anticorpo anti- $\alpha\beta 6$  que compreende (i) uma cadeia pesada compreendendo ou consistindo em uma sequência de aminoácidos que é pelo menos 85%, 90%, 91%, 92 %, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% ou 100% idêntica à sequência de aminoácidos estabelecida na SEQ ID NO: 9; e (ii) uma cadeia leve compreendendo ou consistindo em uma sequência de aminoácidos que é pelo menos 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% ou 100% idêntica à sequência de aminoácidos apresentada na SEQ ID NO:10. Em algumas modalidades, os anticorpos anti- $\alpha\beta 6$  se ligam seletivamente ao  $\alpha\beta 6$ . Em algumas modalidades, esses anticorpos anti- $\alpha\beta 6$  ou o fragmento de ligação ao  $\alpha\beta 6$  dos mesmos bloqueiam a ligação de  $\alpha\beta 6$  ao seu ligando, peptídeo associado à latência (LAP), conforme determinado pelo bloqueio da ligação ao ligando tanto às células hsc $\alpha\beta 6$  purificadas quanto às células que expressam  $\beta 6$ . Em algumas modalidades, esses anticorpos anti- $\alpha\beta 6$  ou o fragmento de ligação ao  $\alpha\beta 6$  dos mesmos possuem uma ou mais (por exemplo, um, dois, três, quatro) dessas propriedades: (i) se ligam especificamente com alta afinidade ao  $\alpha\beta 6$ ; (ii) inibem a ligação de  $\alpha\beta 6$  ao LAP, à fibronectina, à vitronectina ou à tenascina com um valor de IC50 menor que o do anticorpo 10D5 (WO

99/07405); (iii) bloquear ou inibir a ativação de TGF- $\beta$ ; (iv) se ligam especificamente à subunidade  $\beta 6$ ; e (v) reconhecem  $\alpha \nu \beta 6$  em procedimentos de imunocoloração, como imunocoloração de tecidos embebidos em parafina.

[068] Em certas modalidades, essas composições são composições de anticorpo anti- $\alpha \nu \beta 6$  de alta concentração. Por "composição de anticorpo anti- $\alpha \nu \beta 6$  de alta concentração" entende-se uma composição compreendendo anticorpos anti- $\alpha \nu \beta 6$  ou os fragmentos de ligação ao  $\alpha \nu \beta 6$  do mesmo a uma concentração superior a 100 mg/ml e inferior a 300 mg/ml. Em certos casos, a composição de anticorpo anti- $\alpha \nu \beta 6$  compreende anticorpos anti- $\alpha \nu \beta 6$  ou os fragmentos de ligação ao  $\alpha \nu \beta 6$  a uma concentração de 50 mg/ml a 250 mg/ml. Em certos casos, a composição de anticorpo anti- $\alpha \nu \beta 6$  compreende anticorpos anti- $\alpha \nu \beta 6$  ou os fragmentos de ligação ao  $\alpha \nu \beta 6$  a uma concentração de 50 mg/ml a 225 mg/ml. Em outros casos, a composição de anticorpo anti- $\alpha \nu \beta 6$  compreende anticorpos anti- $\alpha \nu \beta 6$  ou os fragmentos de ligação ao  $\alpha \nu \beta 6$  a uma concentração de 75 mg/ml a 225 mg/ml. Em certos casos, a composição de anticorpo anti- $\alpha \nu \beta 6$  compreende anticorpos anti- $\alpha \nu \beta 6$  ou os fragmentos de ligação ao  $\alpha \nu \beta 6$  a uma concentração de 50 mg/ml a 200 mg/ml. Em outros casos, a composição de anticorpo anti- $\alpha \nu \beta 6$  compreende anticorpos anti- $\alpha \nu \beta 6$  ou os fragmentos de ligação ao  $\alpha \nu \beta 6$  a uma concentração de 75 mg/ml a 165 mg/ml. Em outros casos, a composição de anticorpo anti- $\alpha \nu \beta 6$  compreende anticorpos anti- $\alpha \nu \beta 6$  ou os fragmentos de ligação ao  $\alpha \nu \beta 6$  a uma concentração de 100 mg/ml a 225 mg/ml. Em ainda outros casos, a composição de anticorpo anti- $\alpha \nu \beta 6$  compreende anticorpos anti- $\alpha \nu \beta 6$  ou os fragmentos de ligação ao  $\alpha \nu \beta 6$  a uma concentração de 125 mg/ml a 225 mg/ml. Em outros casos, a composição de anticorpo anti- $\alpha \nu \beta 6$  compreende anticorpos anti- $\alpha \nu \beta 6$  ou os fragmentos de ligação ao  $\alpha \nu \beta 6$  a uma concentração de 125 mg/ml a 175 mg/ml. Em certos casos, a composição de anticorpo anti- $\alpha \nu \beta 6$

compreende anticorpos anti- $\alpha\text{v}\beta 6$  ou os fragmentos de ligação ao  $\alpha\text{v}\beta 6$  a uma concentração de 240 mg/ml. Em certos casos, a composição de anticorpo anti- $\alpha\text{v}\beta 6$  compreende anticorpos anti- $\alpha\text{v}\beta 6$  ou os fragmentos de ligação ao  $\alpha\text{v}\beta 6$  a uma concentração de 225 mg/ml. Em certos casos, a composição de anticorpo anti- $\alpha\text{v}\beta 6$  compreende anticorpos anti- $\alpha\text{v}\beta 6$  ou os fragmentos de ligação ao  $\alpha\text{v}\beta 6$  a uma concentração de 200 mg/ml. Em certos casos, a composição de anticorpo anti- $\alpha\text{v}\beta 6$  compreende anticorpos anti- $\alpha\text{v}\beta 6$  ou os fragmentos de ligação ao  $\alpha\text{v}\beta 6$  a uma concentração de 175 mg/ml. Em certos casos, a composição de anticorpo anti- $\alpha\text{v}\beta 6$  compreende anticorpos anti- $\alpha\text{v}\beta 6$  ou os fragmentos de ligação ao  $\alpha\text{v}\beta 6$  a uma concentração de 150 mg/ml. Em outros casos, a composição de anticorpo anti- $\alpha\text{v}\beta 6$  compreende anticorpos anti- $\alpha\text{v}\beta 6$  ou os fragmentos de ligação ao  $\alpha\text{v}\beta 6$  a uma concentração de 125 mg/ml. Em alguns casos, a composição de anticorpo anti- $\alpha\text{v}\beta 6$  compreende anticorpos anti- $\alpha\text{v}\beta 6$  ou os fragmentos de ligação ao  $\alpha\text{v}\beta 6$  a uma concentração de 100 mg/ml.

[069] Uma composição (por exemplo, uma composição farmacêutica) compreendendo um anticorpo anti- $\alpha\text{v}\beta 6$  ou o fragmento de ligação ao  $\alpha\text{v}\beta 6$  aqui descrito pode estar em qualquer uma de uma variedade de formas. Isso inclui, por exemplo, soluções líquidas (por exemplo, soluções injetáveis e infusíveis), dispersões ou suspensões. A forma preferida pode depender do modo pretendido da administração e aplicação terapêutica. Em certas modalidades, uma composição farmacêutica aqui descrita está na forma de uma solução injetável ou infusível estéril.

[070] As soluções injetáveis estéreis podem ser preparadas incorporando um anticorpo aqui descrito na quantidade necessária com um ou uma combinação de ingredientes, seguido de esterilização filtrada. Geralmente, as dispersões são preparadas incorporando um anticorpo aqui descrito em um veículo estéril que contém um meio de dispersão

básico e os outros ingredientes necessários. No caso de pós estéreis para a preparação de soluções injetáveis estéreis, um método exemplificativo de preparação é secagem a vácuo e secagem por congelamento, que produz um pó de um anticorpo descrito aqui mais qualquer ingrediente adicional desejado a partir de uma solução previamente filtrada estéril da mesma. A fluidez adequada de uma solução pode ser mantida, por exemplo, pelo uso de um revestimento, tal como lecitina, pela manutenção do tamanho de partícula necessária em caso de dispersão e pelo uso de surfactantes.

[071] As composições de anticorpo anti- $\alpha\beta 6$  (por exemplo, composições farmacêuticas) podem adicionalmente compreender um ou mais excipientes.

[072] Numa modalidade, o excipiente diminui/reduz a agregação e/ou viscosidade do anticorpo na composição em comparação com a agregação e/ou viscosidade do anticorpo na composição farmacêutica sem esse excipiente. Em certas modalidades, esse excipiente é arginina. Em um exemplo, o excipiente é o cloridrato de L-arginina. A arginina (*por exemplo*, cloridrato de L-arginina) pode ser incluída na composição a uma concentração de 40 mM a 260 mM, 50 mM a 250 mM, 50 mM a 200 mM, 50 mM a 150 mM, 50 mM a 125 mM, 50 mM a 100 mM, 75 mM a 250 mM, 75 mM a 200 mM, 75 mM a 150 mM ou 75 mM a 100 mM. Em certas modalidades, a arginina (por exemplo, Arg.HCl) está presente na composição a uma concentração de 50 mM a 250 mM. Em outras modalidades, a arginina (por exemplo, Arg.HCl) está presente na composição a uma concentração de 50 mM a 200 mM. Em certos casos, a arginina (*por exemplo*, cloridrato de arginina) pode ser incluída na composição a uma concentração de 80 mM, 100 mM, 120 mM, 125 mM, 130 mM, 135 mM, 140 mM, 145 mM, 150 mM, 220 mM ou 260 mM. Em um caso específico, a arginina (*por exemplo*, cloridrato de arginina) pode ser incluída na composição a uma concentração de 100 mM. Em

um outro caso específico, a arginina (por exemplo, cloridrato de arginina) pode ser incluída na composição a uma concentração de 150 mM.

[073] Às vezes, soluções contendo arginina desenvolvem partículas visíveis após a incubação em temperatura ambiente ou em temperaturas mais altas (*por exemplo*, 40°C). A adição de sacarose pode reduzir ou impedir a formação de partículas visíveis. Além disso, a sacarose pode diminuir a contagem de partículas subvisíveis. Em algumas modalidades, a composição de anticorpo anti- $\alpha\beta6$  compreende sacarose a uma concentração de 0,05% a 5%, 0,05% a 4%, 0,05% a 3%, 1% a 5%, 1% a 4%, 1% a 3 %, 2% a 5%, 2% a 4% ou 2% a 3%. Em certas modalidades, a composição de anticorpo anti- $\alpha\beta6$  compreende sacarose a uma concentração de 0,5%, 1%, 1,5%, 2%, 2,5%, 3%, 3,5%, 4%, 4,5% ou 5%. Numa modalidade particular, a composição de anticorpo anti- $\alpha\beta6$  compreende sacarose a uma concentração de 3%. Numa outra modalidade particular, a composição de anticorpo anti- $\alpha\beta6$  compreende sacarose a uma concentração de 1%.

[074] Numa modalidade, as composições de anticorpo anti- $\alpha\beta6$  compreendem metionina. Em um exemplo, a metionina é incluída na composição em uma concentração de 0,5 mM a 25 mM. Em um outro exemplo, a metionina é incluída na composição a uma concentração de 1 mM a 10 mM. Em um outro exemplo, a metionina é incluída na composição a uma concentração de 3 mM a 8 mM. Em um exemplo, a metionina é incluída na composição a uma concentração de 1 mM, 2 mM, 5 mM, 10 mM, 15 mM, 20 mM ou 25 mM. Num caso particular, a metionina é incluída na composição a uma concentração de 10 mM. Em um outro exemplo particular, a metionina é incluída na composição a uma concentração de 5 mM.

[075] A fabricação de produtos de anticorpos é um processo complexo que pode envolver várias etapas, como, por exemplo, substâncias de fármaco e formulações a granel, filtração, remessa,

agrupamento, preenchimento, liofilização, inspeções, embalagens e armazenamento. Durante essas etapas, os anticorpos podem ser submetidos a muitas formas diferentes de estresse, por exemplo, agitação, temperatura, exposição à luz e oxidação. Esses tipos de estresse podem levar à desnaturação e agregação do anticorpo, o que compromete a qualidade do produto e pode até levar à perda de um lote de produção. A agitação é um dos estresses físicos comuns aos quais a terapêutica de anticorpos é submetida durante o curso do processo de fabricação. A agitação ocorre, por exemplo, durante a mistura, ultrafiltração/diafiltração, bombeamento, transporte e preenchimento. Para proteger a composição de anticorpo contra o estresse induzido por agitação, a composição pode incluir um polissorbato. Em certas modalidades, a composição compreende polissorbato-80 em uma concentração de 0,01% a 0,5%, 0,01% a 0,1%, 0,01% a 0,09%, 0,01% a 0,08%, 0,01% a 0,07%, 0,01% a 0,06%, 0,01% a 0,05%, 0,01% a 0,04% ou 0,01% a 0,03%. Em certas modalidades, a composição compreende polissorbato-80 a uma concentração de 0,02% a 0,08%. Em algumas modalidades, a composição compreende polissorbato-80 a uma concentração de 0,01%, 0,02%, 0,03%, 0,04%, 0,05%, 0,06%, 0,07%, 0,08%, 0,09% ou 0,1%. Numa modalidade particular, a composição compreende polissorbato-80 a uma concentração de 0,05%.

[076] Qualquer composição de anticorpo se beneficia de um tampão que fornece boa capacidade de tamponamento. Em certas modalidades, a composição de anticorpo compreende citrato de sódio e ácido cítrico como agente tampão. Em certas modalidades, a composição compreende citrato de sódio e ácido cítrico a uma concentração de 5 mM a 50 mM, 5 mM a 40 mM, 5 mM a 35 mM, 5 mM a 30 mM, 5 mM a 25 mM, 10 mM a 50 mM, 10 mM a 40 mM, 10 mM a 30 mM, 10 mM a 25 mM, 15 mM a 50 mM, 15 mM a 40 mM, 15 mM a 30 mM ou 15 mM

a 25 mM. Em certas modalidades, a composição compreende citrato de sódio e ácido cítrico a uma concentração de 5 mM a 35 mM. Em certas modalidades, a composição compreende citrato de sódio e ácido cítrico a uma concentração de 10 mM a 30 mM. Em algumas modalidades, a composição compreende citrato de sódio e ácido cítrico a uma concentração de 5 mM, 10 mM, 15 mM, 20 mM, 25 mM, 30 mM ou 35 mM. Numa modalidade particular, a composição compreende citrato de sódio e ácido cítrico a uma concentração de 20 mM.

[077] O pH da composição de anticorpo pode ser de 5,0 a 6,5. Em certos casos, o pH da composição de anticorpo pode ser de 5,2 a 6,2. Em certos casos, o pH da composição de anticorpo é 5,0, 5,1, 5,2, 5,3, 5,4, 5,5, 5,6, 5,7, 5,8, 5,9, 6,0, 6,1, 6,2, 6,3, 6,4 ou 6,5. Numa modalidade particular, o pH da composição de anticorpo é 5,5.

[078] Em alguns casos, as composições de anticorpo anti- $\alpha\text{v}\beta 6$  compreendem cloridrato de L-arginina (por exemplo, 150 mM) e metionina (por exemplo, 5 mM). Em certos casos, essas composições têm um pH de 5,5.

[079] Em alguns casos, as composições de anticorpo anti- $\alpha\text{v}\beta 6$  compreendem cloridrato de L-arginina (por exemplo, 150 mM), metionina (por exemplo, 5 mM) e um tampão (por exemplo, citrato de sódio e ácido cítrico a 20 mM). Em certos casos, essas composições têm um pH de 5,5.

[080] Em alguns casos, as composições de anticorpo anti- $\alpha\text{v}\beta 6$  compreendem cloridrato de L-arginina (por exemplo, 150 mM), metionina (por exemplo, 5 mM) e PS80 (por exemplo, 0,05%). Em certos casos, essas composições têm um pH de 5,5.

[081] Em certas modalidades, as composições de anticorpo anti- $\alpha\text{v}\beta 6$  compreendem cloridrato de L-arginina (por exemplo, 150 mM), metionina (por exemplo, 5 mM), citrato de sódio e ácido cítrico (por exemplo, 20 mM) e PS80 (por exemplo, 0,05%) e tem um pH de 5,2 a



6,2. Em algumas modalidades, as composições anti- $\alpha\text{v}\beta 6$  compreendem cloridrato de L-arginina (por exemplo, 150 mM), metionina (por exemplo, 5 mM), citrato de sódio e ácido cítrico (por exemplo, 20 mM) e PS80 (por exemplo, 0,05%), e tem um pH de 5,5. Em certas modalidades, as composições anti- $\alpha\text{v}\beta 6$  compreendem cloridrato de L-arginina (por exemplo, 150 mM), metionina (por exemplo, 5 mM), citrato de sódio e ácido cítrico (por exemplo, 20 mM), PS80 (por exemplo, 0,05%) e sacarose (até 3%) e tem um pH de 5,2 a 6,2. Em algumas modalidades, as composições anti- $\alpha\text{v}\beta 6$  compreendem cloridrato de L-arginina, metionina, citrato de sódio e ácido cítrico, PS80 e tem um pH de 5,5. Em todas essas modalidades, o anticorpo anti- $\alpha\text{v}\beta 6$  está presente em uma concentração de 100 mg/ml a 165 mg/ml. Em um exemplo, o anticorpo anti- $\alpha\text{v}\beta 6$  está presente a uma concentração de 150 mg/ml. Em um exemplo, o anticorpo anti- $\alpha\text{v}\beta 6$  está presente a uma concentração de 100 mg/ml.

[082] Em alguns casos, a composição anti- $\alpha\text{v}\beta 6$  compreende um antioxidante contendo tiol (por exemplo, glutathiona reduzida (GSH), glutathiona oxidada (GSSG), GSH + GSSG, cisteína, cistina, cisteína + cistina) a uma concentração de 0,02 mM a 2 mM (por exemplo, 0,02, 0,03, 0,05, 0,06, 0,08, 0,1, 0,2, 0,3, 0,4, 0,5, 0,6, 0,7, 0,8, 0,9, 1,0, 1,1, 1,2, 1,3, 1,4, 1,5, 1,6, 1,7, 1,8, 1,9 ou 2,0 mM). Tais antioxidantes contendo tiol podem clivar ligações dissulfeto desfavoráveis ou descontroladas e promover a formação de ligações dissulfeto favoráveis ou adequadamente em ponte. Isso resultaria na estabilização da confirmação nativa do anticorpo ou fragmento do mesmo e diminuiria as taxas de agregação. As propriedades antioxidantes dessas moléculas podem retardar os processos oxidativos que levam à agregação. Em alguns casos, a composição compreende GSH a uma concentração de 0,4 mM. Em alguns casos, a composição compreende GSSG a uma concentração de 0,2 mM. Em alguns casos, a composição compreende GSH a

uma concentração de 0,4 mM e GSSG a uma concentração de 0,2 mM. Em alguns casos, a composição compreende cisteína a uma concentração de 0,4 mM. Em alguns casos, a composição compreende cistina a uma concentração de 0,2 mM. Em alguns casos, a composição compreende cisteína a uma concentração de 0,4 mM e cistina a uma concentração de 0,2 mM.

[083] Em certas modalidades, as composições de anticorpo anti- $\alpha\beta6$  compreendem cloridrato de L-arginina (por exemplo, 150 mM), metionina (por exemplo, 5 mM), citrato de sódio e ácido cítrico (por exemplo, 20 mM), um antioxidante contendo tiol, como GSH, GSSG, GSH e GSSG, cisteína, cistina ou cisteína e cistina (por exemplo, 0,02 mM a 2 mM) e PS80 (por exemplo, 0,05%) e tem um pH de 5,2 a 6,2 . Em algumas modalidades, as composições de anticorpo anti- $\alpha\beta6$  compreendem cloridrato de L-arginina (por exemplo, 150 mM), metionina (por exemplo, 5 mM), citrato de sódio e ácido cítrico (por exemplo, 20 mM), um antioxidante contendo tiol, como GSH, GSSG, GSH e GSSG, cisteína, cistina ou cisteína e cistina (por exemplo, 0,02 mM a 2 mM) e PS80 (por exemplo, 0,05%) e tem um pH de 5,5. Em certas modalidades, as composições de anticorpo anti- $\alpha\beta6$  compreendem cloridrato de L-arginina (por exemplo, 150 mM), metionina (por exemplo, 5 mM), citrato de sódio e ácido cítrico (por exemplo, 20 mM), PS80 (por exemplo, 0,05%), um antioxidante contendo tiol, como GSH, GSSG, GSH e GSSG, cisteína, cistina ou cisteína e cistina (por exemplo, 0,02 mM a 2 mM) e sacarose (até 3%) e tem um pH de 5,2 a 6,2 . Em algumas modalidades, as composições de anticorpo anti- $\alpha\beta6$  compreendem cloridrato de L-arginina, metionina, histidina, PS80 e um antioxidante contendo tiol, como GSH, GSSG, GSH e GSSG, cisteína, cistina ou cisteína e cistina e tem um pH de 5,5. Em todas essas modalidades, o anticorpo anti- $\alpha\beta6$  está presente em uma concentração de 100 mg/ml a 165 mg/ml. Em um exemplo, o anticorpo anti- $\alpha\beta6$  está

presente a uma concentração de 150 mg/ml. Em um exemplo, o anticorpo anti- $\alpha\beta 6$  está presente a uma concentração de 100 mg/ml.

[084] Em certas modalidades, as composições de anticorpo anti- $\alpha\beta 6$  compreendem cloridrato de L-arginina (por exemplo, 150 mM), tampão de citrato de sódio (citrato de sódio e ácido cítrico) (por exemplo, 20 mM), um antioxidante contendo tiol, como GSH, GSSG, GSH e GSSG, cisteína, cistina ou cisteína e cistina (por exemplo, 0,02 mM a 2 mM) e PS80 (por exemplo, 0,05%) e tem um pH de 5,2 a 6,2. Em algumas modalidades, as composições de anticorpo anti- $\alpha\beta 6$  compreendem cloridrato de L-arginina (por exemplo, 150 mM), citrato de sódio e ácido cítrico (por exemplo, 20 mM), um antioxidante contendo tiol, como GSH, GSSG, GSH e GSSG, cisteína, cistina ou cisteína e cistina (por exemplo, 0,02 mM a 2 mM) e PS80 (por exemplo, 0,05%) e tem um pH de 5,5. Em certas modalidades, as composições de anticorpo anti- $\alpha\beta 6$  compreendem cloridrato de L-arginina (por exemplo, 150 mM), citrato de sódio e ácido cítrico (por exemplo, 20 mM), PS80 (por exemplo, 0,05%), um antioxidante contendo tiol, como GSH, GSSG, GSH e GSSG, cisteína, cistina ou cisteína e cistina (por exemplo, 0,02 mM a 2 mM) e sacarose (até 3%) e tem um pH de 5,2 a 6,2. Em algumas modalidades, as composições de anticorpo anti- $\alpha\beta 6$  compreendem cloridrato de L-arginina, histidina, PS80 e um antioxidante contendo tiol, como GSH, GSSG, GSH e GSSG, cisteína, cistina ou cisteína e cistina e tem um pH de 5,5. Em todas essas modalidades, o anticorpo anti- $\alpha\beta 6$  está presente em uma concentração de 100 mg/ml a 165 mg/ml. Em um exemplo, o anticorpo anti- $\alpha\beta 6$  está presente a uma concentração de 150 mg/ml. Em um exemplo, o anticorpo anti- $\alpha\beta 6$  está presente a uma concentração de 100 mg/ml.

[085] Em certas modalidades, a composição (por exemplo, uma composição farmacêutica) compreende um anticorpo anti- $\alpha\beta 6$  ou um fragmento de ligação a ao  $\alpha\beta 6$  do mesmo a uma concentração de 75

mg/ml a 250 mg/ml, arginina (*por exemplo*, cloridrato de L-arginina) a uma concentração de 50 mM a 200 mM, metionina a uma concentração de 1 mM a 10 mM; polissorbato-80 na concentração de 0,01% a 0,1%, citrato de sódio e ácido cítrico na concentração de 10 mM a 30 mM e sacarose na concentração de 0% a 3%. A composição tem um pH de 5,2 a 6,0. Em certas modalidades, o anticorpo anti- $\alpha\beta 6$  ou um fragmento de ligação ao  $\alpha\beta 6$  da composição compreende uma VH e uma VL compreendendo as CDRs de STX-100 (*por exemplo*, SEQ ID NOs: 1 ou 11, 2, 3, 4, 5 e 6). Em certas modalidades, o anticorpo anti- $\alpha\beta 6$  ou um fragmento de ligação ao  $\alpha\beta 6$  do mesmo da composição compreende uma VH e uma VL compreendendo SEQ ID NOs: 7 e 8, respectivamente. Em algumas modalidades, o anticorpo anti- $\alpha\beta 6$  ou um fragmento de ligação ao  $\alpha\beta 6$  do mesmo da composição compreende uma cadeia pesada e uma cadeia leve compreendendo SEQ ID NOs: 9 e 10, respectivamente. Em uma modalidade, a composição tem um pH de 5,5 e compreende STX-100 ou um fragmento de ligação ao STX-100 a uma concentração de 150 mg/ml, cloridrato de L-arginina a uma concentração de 150 mM, metionina a uma concentração de 5 mM, polissorbato-80 a uma concentração de 0,05% e citrato de sódio e ácido cítrico a uma concentração de 20 mM. Em certas modalidades, a composição compreende ainda um antioxidante contendo tiol (*por exemplo*, GSH, GSSG, GSH + GSSG, cisteína, cistina, cisteína + cistina) a uma concentração de 0,02 mM a 2 mM. Em algumas modalidades, a composição compreende ainda sacarose a uma concentração de 0,01% a 3%. Em certas modalidades, o anticorpo anti- $\alpha\beta 6$  ou um fragmento de ligação ao  $\alpha\beta 6$  do mesmo da composição compreende uma VH e uma VL compreendendo as CDRs de STX-100 (*por exemplo*, SEQ ID NOs: 1 ou 11, 2, 3, 4, 5 e 6). Em certas modalidades, o anticorpo anti- $\alpha\beta 6$  ou um fragmento de ligação ao  $\alpha\beta 6$  do mesmo da composição compreende uma VH e uma VL compreendendo SEQ ID

NOs: 7 e 8, respectivamente. Em algumas modalidades, o anticorpo anti- $\alpha\text{v}\beta 6$  ou um fragmento de ligação ao  $\alpha\text{v}\beta 6$  do mesmo da composição compreende uma cadeia pesada e uma cadeia leve compreendendo SEQ ID NOs: 9 e 10, respectivamente.

[086] Em uma modalidade, a composição tem um pH de 5,5 e compreende STX-100 ou um fragmento de ligação ao STX-100 do mesmo a uma concentração de 150 mg/ml de cloridrato de L-arginina a uma concentração de 150 mM, um antioxidante contendo tiol (por exemplo, GSH, GSSG, GSH + GSSG, cisteína, cistina, cisteína + cistina) a uma concentração de 0,02 mM a 2 mM, polissorbato-80 a uma concentração de 0,05% e citrato de sódio e ácido cítrico a uma concentração de 20 milímetros. Numa modalidade, o antioxidante contendo tiol é GSH a uma concentração de 0,4 mM. Numa modalidade, o antioxidante contendo tiol é GSH a uma concentração de 0,4 mM e GSSG a uma concentração de 0,2 mM. Em uma outra modalidade, o antioxidante contendo tiol é a cisteína a uma concentração de 0,4 mM. Em uma outra modalidade, o antioxidante contendo tiol é a cisteína a uma concentração de 0,4 mM e a cistina a uma concentração de 0,2 mM.

### **Dosagem**

[087] O anticorpo anti- $\alpha\text{v}\beta 6$  (*por exemplo*, STX-100) ou o fragmento de ligação ao  $\alpha\text{v}\beta 6$  descrito acima pode ser administrado a um sujeito, *por exemplo*, um sujeito humano, em doses diferentes. O anticorpo anti- $\alpha\text{v}\beta 6$  (*por exemplo*, STX-100) ou fragmento de ligação ao  $\alpha\text{v}\beta 6$  pode ser administrado como uma dose fixa (*isto é*, independente do peso do paciente) ou em uma dose de mg/kg (*isto é*, uma dose que varia de acordo com o peso do sujeito). Forma de unidade de dosagem ou "dose fixa", como utilizado neste documento refere-se a unidades distintas fisicamente adequadas como doses unitárias para os sujeitos a serem tratados; cada unidade contém uma quantidade

predeterminada de composto ativo, calculada para produzir o efeito terapêutico desejado, em associação com o transportador farmacêutico necessário e opcionalmente em associação com o outro agente. Podem ser administradas doses únicas ou múltiplas. O tratamento pode continuar por dias, semanas, meses ou até anos.

[088] Em certas modalidades, para o tratamento de uma indicação aqui descrita em um sujeito humano adulto, a dosagem do anticorpo anti- $\alpha\beta 6$  (por exemplo, STX-100) ou o fragmento de ligação  $\alpha\beta 6$  do mesmo é uma dose fixa de 40 mg a 64 mg uma vez por semana. Em uma modalidade, para o tratamento de uma indicação aqui descrita em um sujeito humano adulto, a dosagem do anticorpo anti- $\alpha\beta 6$  (*por exemplo, STX-100*) ou fragmento de ligação ao  $\alpha\beta 6$  do mesmo é uma dose fixa de 40 mg uma vez por semana. Numa outra modalidade, a dosagem do anticorpo anti- $\alpha\beta 6$  ou o fragmento de ligação ao  $\alpha\beta 6$  do mesmo é uma dose fixa de 48 mg uma vez por semana. Numa outra modalidade, a dosagem do anticorpo anti- $\alpha\beta 6$  ou o fragmento de ligação ao  $\alpha\beta 6$  do mesmo é uma dose fixa de 56 mg uma vez por semana. Numa outra modalidade, a dosagem do anticorpo anti- $\alpha\beta 6$  ou o fragmento de ligação ao  $\alpha\beta 6$  do mesmo é uma dose fixa de 64 mg uma vez por semana.

[089] Em certas modalidades, para o tratamento de uma indicação aqui descrita em um sujeito humano adulto, a dosagem do anticorpo anti- $\alpha\beta 6$  (por exemplo, STX-100) ou o fragmento de ligação  $\alpha\beta 6$  do mesmo é uma dose de mg/kg de 0,3 mg/kg a 1,0 mg/kg. Em uma modalidade, para o tratamento de uma indicação aqui descrita em um sujeito humano adulto, a dosagem do anticorpo anti- $\alpha\beta 6$  (por exemplo, STX-100) ou o fragmento de ligação ao  $\alpha\beta 6$  do mesmo é uma dose de mg/kg de 0,5 mg/kg a 0,8 mg/kg. Em uma modalidade, para o tratamento de uma indicação aqui descrita em um sujeito humano adulto, a dosagem do anticorpo anti- $\alpha\beta 6$  (por exemplo, STX-100) ou fragmento

de ligação ao  $\alpha\beta 6$  do mesmo é uma dose em mg/kg de 0,5 mg/kg. Em uma outra modalidade, para o tratamento de uma indicação aqui descrita em um sujeito humano adulto, a dosagem do anticorpo anti- $\alpha\beta 6$  (por exemplo, STX-100) ou o fragmento de ligação ao  $\alpha\beta 6$  do mesmo é uma dose em mg/kg de 0,6 mg/kg. Em uma outra modalidade, para o tratamento de uma indicação aqui descrita em um sujeito humano adulto, a dosagem do anticorpo anti- $\alpha\beta 6$  (por exemplo, STX-100) ou o fragmento de ligação ao  $\alpha\beta 6$  do mesmo é uma dose em mg/kg de 0,7 mg/kg. Em ainda uma outra modalidade, para o tratamento de uma indicação aqui descrita em um sujeito humano adulto, a dosagem do anticorpo anti- $\alpha\beta 6$  (por exemplo, STX-100) ou o fragmento de ligação ao  $\alpha\beta 6$  do mesmo é uma dose em mg/kg de 0,8 mg/kg.

[090] Em certos casos, o anticorpo anti- $\alpha\beta 6$  ou fragmento de ligação ao  $\alpha\beta 6$  é administrado em combinação com uma quantidade terapeuticamente eficaz de um tratamento reconhecido na técnica para IPF.

[091] As opções de tratamento reconhecidas na técnica exemplificativa que podem ser usadas em combinação com o anticorpo da invenção incluem: Corticosteroides (prednisona); Ciclofosfamida (Cytoxan®); Azatioprina (Imuran®); Micoferolato de mofetil (Cellcept®, Myfortic®); N-acetilcisteína (NAC); Nintedaniba (Ofev®); Pirfenidona (Esbriet®, Pirfenex®, Pirespa®); Inibidores da bomba de prótons (Prilosec OTC®, Nexium®, outros); ou Oxigenoterapia suplementar.

[092] Numa modalidade, um anticorpo da invenção é combinado com prifenidona ou nintedanibe. Em certos casos, o sujeito recebe prifenidona da seguinte maneira:

Dias de tratamento	Dosagem
Dias 1 a 7	267 mg três vezes ao dia (801 mg/dia)
Dias 8 a 14	534 mg três vezes ao dia (1602 mg/dia)
Dias 15 em diante	801 mg três vezes ao dia (2403 mg/dia)

em combinação com o anticorpo da invenção. Em certos casos, o sujeito é administrado com uma quantidade terapeuticamente eficaz de nintedanibe a uma dose fixa de 150 mg duas vezes ao dia em combinação com o anticorpo da invenção.

[093] Em certos casos, o anticorpo anti- $\alpha\beta6$  ou fragmento de ligação ao  $\alpha\beta6$  do mesmo é administrado em combinação com um anticorpo que inibe a atividade do fator de crescimento do tecido conjuntivo (CTGF), como, sem limitação, o anticorpo monoclonal totalmente humano, Pamrevlumabe.

[094] Em certos casos, o anticorpo anti- $\alpha\beta6$  ou fragmento de ligação ao  $\alpha\beta6$  do mesmo é administrado em combinação com uma quantidade terapeuticamente eficaz de um inibidor seletivo de autotaxina (por exemplo, GLPG1690).

[095] Em certos casos, o anticorpo anti- $\alpha\beta6$  ou fragmento de ligação ao  $\alpha\beta6$  é administrado em combinação com uma quantidade terapeuticamente eficaz de GBT-440.

[096] Uma composição farmacêutica pode incluir uma "quantidade terapeuticamente eficaz" de um agente aqui descrito. Tais quantidades eficazes podem ser determinadas com base no efeito do agente administrado ou no efeito combinatório dos agentes se mais de um agente for usado. Uma quantidade terapeuticamente eficaz de um agente também pode variar de acordo com fatores como o estado da doença, idade, sexo e peso do indivíduo, e a capacidade do composto de provocar uma resposta desejada no indivíduo. Uma quantidade terapeuticamente eficaz é também aquela em que quaisquer efeitos tóxicos ou prejudiciais da composição são compensados pelos efeitos terapeuticamente benéficos. Em certas modalidades, a quantidade terapeuticamente eficaz do anticorpo anti- $\alpha\beta6$  ou o fragmento de ligação ao  $\alpha\beta6$  do mesmo é de 40 mg a 64 mg. Numa modalidade, a quantidade terapeuticamente eficaz do anticorpo anti- $\alpha\beta6$  ou o



fragmento de ligação ao  $\alpha\beta 6$  do mesmo é de 40 mg. Numa outra modalidade, a quantidade terapeuticamente eficaz do anticorpo anti- $\alpha\beta 6$  ou o fragmento de ligação ao  $\alpha\beta 6$  do mesmo é de 48 mg. Em ainda outra modalidade, a quantidade terapeuticamente eficaz do anticorpo anti- $\alpha\beta 6$  ou o fragmento de ligação ao  $\alpha\beta 6$  do mesmo é de 56 mg. Em ainda outra modalidade, a quantidade terapeuticamente eficaz do anticorpo anti- $\alpha\beta 6$  ou o fragmento de ligação ao  $\alpha\beta 6$  do mesmo é de 64 mg.

[097] A via e/ou modo de administração do anticorpo anti- $\alpha\beta 6$  ou o fragmento de ligação ao  $\alpha\beta 6$  do mesmo podem ser adaptados para o sujeito indivíduo. Para muitas aplicações, a via de administração é uma das seguintes: injeção subcutânea (SC), injeção intravenosa ou infusão (IV), administração intraperitoneal (IP) ou injeção intramuscular. Numa modalidade, a via de administração é subcutânea. Numa outra modalidade, a via de administração é intravenosa.

[098] As composições farmacêuticas que compreendem o anticorpo anti- $\alpha\beta 6$  ou o fragmento de ligação ao  $\alpha\beta 6$  do mesmo isoladamente ou em combinação com agente(s) não anticorpo(s) de  $\alpha\beta 6$  podem ser administradas com um dispositivo médico. O dispositivo pode ser projetado com recursos como portabilidade, armazenamento em temperatura ambiente e facilidade de uso, para que possa ser usado em situações de emergência, por exemplo, por um sujeito não treinado ou por pessoal de emergência no campo, removido para instalações médicas e outros equipamentos médicos. O dispositivo pode incluir, por exemplo, um ou mais alojamentos para armazenar preparações farmacêuticas que incluem o anticorpo anti- $\alpha\beta 6$  ou o fragmento de ligação ao  $\alpha\beta 6$  do mesmo, e pode ser configurado para fornecer uma ou mais doses unitárias do anticorpo anti- $\alpha\beta 6$  ou outro agente.

[099] Por exemplo, a composição farmacêutica pode ser administrada com um dispositivo de injeção hipodérmica sem agulha, tal

como os dispositivos divulgados em US 5.399.163; 5.383.851; 5.312.335; 5.064.413; 4.941.880; 4.790.824; ou 4.596.556. Exemplos de implantes e módulos bem conhecidos incluem: US 4.487.603, que descreve uma bomba de microinfusão implantável para dispensar medicação a uma taxa controlada; US 4.486.194, que descreve um dispositivo terapêutico para administrar medicamentos através da pele; US 4.447.233, que descreve uma bomba de infusão de medicamentos para administrar medicamentos a uma taxa de infusão precisa; US 4.447.224, que descreve um aparelho de infusão implantável de fluxo variável para distribuição contínua de fármacos; US 4.439.196, que descreve um sistema de distribuição de fármacos osmóticos com compartimentos de múltiplas câmaras; e US 4.475.196, que descreve um sistema de distribuição de fármacos osmóticos. Muitos outros dispositivos, implantes, sistemas de distribuição e módulos também são conhecidos.

[0100] Numa modalidade, o anticorpo anti- $\alpha\beta6$  ou o fragmento de ligação ao  $\alpha\beta6$  é administrado a um sujeito humano com uma seringa. Numa outra modalidade, o anticorpo anti- $\alpha\beta6$  ou o fragmento de ligação ao  $\alpha\beta6$  do mesmo é administrado a um sujeito humano com uma bomba para distribuição subcutânea. Em algumas modalidades, o anticorpo anti- $\alpha\beta6$  ou o fragmento de ligação ao  $\alpha\beta6$  do mesmo é administrado a um sujeito humano com um autoinjeter. Em outras modalidades, o anticorpo anti- $\alpha\beta6$  ou o fragmento de ligação ao  $\alpha\beta6$  é administrado a um sujeito humano com um injetor subcutâneo de grande volume.

[0101] Esta divulgação fornece uma bomba ou seringa compreendendo uma preparação estéril de um anticorpo anti- $\alpha\beta6$  (por exemplo, STX-100) ou o fragmento de ligação ao  $\alpha\beta6$  do mesmo. A seringa ou bomba pode ser adaptada para administração subcutânea do anticorpo anti- $\alpha\beta6$  ou o fragmento de ligação ao  $\alpha\beta6$  do mesmo. Em alguns

casos, a seringa ou bomba administra doses fixas (por exemplo, 40 mg, 48 mg, 56 mg, 64 mg) do anticorpo anti- $\alpha\beta 6$  ou o fragmento de ligação ao  $\alpha\beta 6$  do mesmo.

[0102] A divulgação também fornece uma bomba, seringa ou injetor (por exemplo, autoinjeter, injetor subcutâneo de grande volume) compreendendo uma preparação estéril das composições farmacêuticas descritas acima. A seringa ou bomba pode ser adaptada para administração subcutânea das composições farmacêuticas compreendendo o anticorpo anti- $\alpha\beta 6$  ou o fragmento de ligação ao  $\alpha\beta 6$  do mesmo. Em alguns casos, a seringa ou bomba administra doses fixas (por exemplo, 40 mg, 48 mg, 56 mg, 64 mg) do anticorpo anti- $\alpha\beta 6$  ou o fragmento de ligação ao  $\alpha\beta 6$  do mesmo.

### **Métodos de tratamento**

[0103] Os anticorpos desta divulgação são úteis no tratamento, incluindo prevenção, de doenças mediadas por  $\alpha\beta 6$ . Por exemplo, esses anticorpos podem ser usados para tratar fibrose (por exemplo, fibrose pulmonar, fibrose renal, fibrose hepática, fibrose cardíaca), lesão pulmonar aguda, lesão renal aguda, Síndrome de Alport, psoríase, esclerodermia e esclerose pulmonar, hepática ou renal, bloqueando a ativação de TGF- $\beta$  ou bloqueando a ligação de  $\beta 6$  a quaisquer outros ligandos, como fibronectina, vitronectina e tenascina. A novidade dessa abordagem inclui: (1) bloquear a ativação de TGF- $\beta$  em vez da ligação de TGF- $\beta$  ao seu receptor; (2) pode inibir o TGF- $\beta$  localmente (ou seja, em sítios de sobreexpressão de  $\alpha\beta 6$ ) do que sistemicamente, e (3) inibir a ligação de  $\alpha\beta 6$  a um ligando.

[0104] Além de doenças ou condições fibróticas, os anticorpos da divulgação são úteis no tratamento de câncer ou metástase de câncer (incluindo crescimento e invasão de tumores), particularmente cânceres epiteliais. Um subconjunto de cânceres epiteliais é o carcinoma espinocelular, *por exemplo*, câncer de cabeça e pescoço, oral, mama,

pulmão, próstata, cervical, faríngeo, cólon, pancreático e ovariano.

[0105] Em modalidades adicionais da invenção, os anticorpos de ligação ao  $\alpha\beta 6$  ou os fragmentos dos mesmos, podem ser utilizados em regimes terapêuticos para o tratamento de seres humanos com ou em risco de desenvolver carcinomas. Tais métodos da invenção são úteis no tratamento de câncer e eventos associados, incluindo crescimento de tumores, metástases e angiogênese. Particularmente favoráveis a essa abordagem são as doenças ou cânceres caracterizados por níveis aumentados de expressão de  $\alpha\beta 6$  nos tecidos ou células de um mamífero que sofrem da doença e que respondem a tratamentos direcionados aos tecidos ou células que expressam níveis aumentados de  $\alpha\beta 6$  e eliminem esses tecidos ou células. As doenças que são particularmente tratáveis por esses métodos incluem cânceres metastáticos de tecidos epiteliais (ou seja, carcinomas metastáticos e/ou adenocarcinomas), incluindo mama, ovário, próstata, fígado, pulmão, pâncreas, cólon, cabeça e pescoço (por exemplo, tecidos faríngeo, lingual e laríngeo), endométrio, colo do útero, estômago e baço. Particularmente adequados para o tratamento por esses métodos da presente invenção são os carcinomas do endométrio, pâncreas, cólon (por exemplo, carcinomas colorretais), colo do útero, pulmão e mama (incluindo carcinoma ductal in situ (DCIS) e carcinoma lobular in situ (LCIS) do peito).

[0106] A seguir, são exemplos da prática da invenção. Eles não devem ser considerados como limitativos do escopo da invenção.

#### Exemplos

[0107] Estes exemplos referem-se, em parte, ao desenvolvimento de uma formulação líquida estável de alta concentração (por exemplo, 100 mg/ml ou mais) para STX-100.

#### **Exemplo 1: Avaliação Pré-Formulação**

[0108] Durante a avaliação inicial da pré-formulação, estudos de estabilidade acelerada foram conduzidos para explorar os componentes

de pH, tampão e excipiente adequados para uma formulação líquida de alta concentração para STX-100. Uma matriz de formulação contendo 10 mM de citrato de Na/ácido cítrico, pH 5,0, 150 mM de cloridrato de arginina (Arginina-HCl) foi usada como controle para comparação. Para a triagem do excipiente, foram testados aminoácidos como glicina, lisina, arginina-HCl e metionina, açúcares como sorbitol, trealose, manitol, sacarose e sistemas tampão, como citrato e acetato. Também foi avaliada uma faixa de pH de 4,4 a 5,7.

[0109] A avaliação de estabilidade acelerada foi realizada a 40°C de incubação durante 4 semanas para as formulações. Os seguintes atributos de qualidade foram monitorados: partículas visíveis e clareza, % de espécies de alto peso molecular (via SEC), total de partículas subvisíveis (via MFI), turbidez (via OD340), pH, fragmentação (via GXII), % de isoformas ácidas totais (via iCIEF) e viscosidade em T0. A ponderação máxima foi atribuída a atributos de qualidade crítica (CQA), como nível agregado e formação de partículas, e foi utilizada na seleção da formulação. As formulações com menor quantidade de nível agregado e formação de partículas foram selecionadas para avaliações posteriores.

[0110] Os dados indicaram que as formulações contendo arginina e trealose são as mais estáveis em comparação com outras (Tabela 2; Figuras 1A-1C; e Figura 2).

**Tabela 2.** Resultados do estudo de triagem de tampão-excipiente pré-formulação

Excipiente/tampão	Aparência visível				Turbidez (OD340)			
	T=0	Tempo a 40°C			T=0	Tempo a 40°C		
		1 semana	2 semanas	4 semanas		1 semana	2 semanas	4 semanas
Glicina 300mM	5-10 partículas	10-50 partículas	<10 partículas	<10 partículas	1,591549	1,0812	1,193952	NT
	NT	cla: 18- 30NTU	cla:18- 30NTU	cla:30- 50NTU				
Lisina 300mM	5-10 partículas	10-50 partículas	Poucas partículas brancas	<10 partículas	0,916307	1,1386	1,30471	NT
	NT	cla: 18- 30NTU	cla: 18- 30NTU	cla:30- 50NTU				

Sorbitol 300mM	50-100 partículas	<10 partículas	<10 partículas	<10 partículas	0,85723	1,1036	1,161319	NT
	NT	cla: 18-30NTU	cla:18-30NTU	cla:30-50NTU				
Trealose 200mM	Poucas partículas observadas	<10 partículas	NT	<10 partículas	1,004	1,005	1,048	NT
	NT	cla: 18-30NTU	NT	cla:30-50NTU				
Manitol 100mM	5-10 partículas	10-50 partículas	<10 partículas	<10 partículas	0,877126	1,1184	1,181954	NT
	NT	cla: 18-30NTU	cla:18-30NTU	cla:30-50NTU				
5% de sacarose	Poucas partículas observadas	<10 partículas	<10 partículas	<10 partículas	1,902725	1,1286	1,192552	NT
	NT	cla: 18-30NTU	cla:18-30NTU	cla:30-50NTU				
Acetato 10mM	<50 partículas	<10 partículas	<10 partículas	<10 partículas	0,71461	0,963	1,0212	NT
	NT	cla: 18-30NTU	cla:18-30NTU	cla:30-50NTU				
Succinato 10mM	<50 partículas	<10 partículas	<10 partículas	<10 partículas	0,925	0,923	0,929	NT
	NT	cla: 18-30NTU	cla: 18-30NTU	cla:30-50NTU				
Citrato 10mM	<50 partículas	<10 partículas	<10 partículas	<10 partículas	0,903355	1,1226	1,178035	NT
	NT	cla: 18-30NTU	cla:18-30NTU	cla:30-50NTU				

NT = não testado

[0111] A presença de metionina 25 mM adicional conferiu maior resistência à agregação da formulação contendo arginina (Figura 1A).

[0112] A pH 4,4, as formulações contendo Arg-HCl 75 mM a 300 mM exibiram formação de gel, enquanto na faixa de pH 5,2 a 5,7, nenhuma formação de gel foi observada em condições aceleradas (Figura 2). Como visto nas Figuras 1A e 2, a % de aumento total do agregado observado nessas formulações também foi menor em toda a tela de excipiente tampão e na tela de pH-arginina. No ArgHCl 150 mM, não houve diferença significativa na agregação entre pH 5,2 e pH 5,7 (Figura 2), sugerindo que essa faixa de pH provavelmente conteria o ponto de ajuste desejado para minimizar a agregação.

### **Exemplo 2: Estudo de estabilidade de médio a longo prazo e seleção de formulações**

[0113] Com base nos resultados da pré-formulação no Exemplo 1, as cinco formulações líquidas a seguir e os correspondentes fechamentos de recipientes (CCs) foram selecionados para prosseguir um estudo de estabilidade a longo prazo (24 meses):

- 1) **Lote# 18169-62:** 150 mg/mL STX-100 em 20 mM Na-citrato/ácido cítrico, pH 5,3, cloridrato de arginina 150 mM (Arg.HCl), PS-80 a 0,05% (1 mL de enchimento em frasco de Schott de 3 mL )
- 2) **Lote# 18169-64:** 150 mg/mL STX-100 em 20 mM Na-citrato/ácido cítrico, pH 5,3, cloridrato de arginina 150 mM (Arg.HCl), PS-80 a 0,05% (1 mL de preenchimento em seringa BD Hypak pré-preenchida, agulha 27G)
- 3) **Lote# 18169-66:** 150 mg/mL STX-100 em 20 mM de Na-citrato/ácido cítrico, pH 5,3, cloridrato de arginina 150 mM (Arg.HCl), metionina 25 mM, PS-80 a 0,05% (preenchimento de 1 mL em seringa BD Hypak pré-preenchida, agulha 27G)
- 4) **Lote# 18169-67:** 150 mg/mL STX-100 em 20 mM Na-citrato/ácido cítrico, pH 5,3, trealose 200 mM, PS-80 a 0,05% (1 mL de preenchimento em seringa BD Hypak pré-preenchida, agulha 27G)
- 5) **Lote# 18169-72:** 250 mg/mL STX-100 em 20 mM de Na-citrato/ácido cítrico, pH 5,3, cloridrato de arginina 150 mM (Arg.HCl), metionina 25 mM, PS-80 a 0,05% (preenchimento de 1 mL em seringa BD Hypak pré-preenchida, agulha 27G)

*Dados de agregação:* Os dados de estabilidade indicaram que todas as cinco formulações listadas acima exibiram uma baixa propensão à agregação durante 12 meses de armazenamento a 5°C, com apenas um aumento de 0,2-0,3% na % de agregado total em todas as formulações (Tabela 3).

**Tabela 3.** % a longo prazo Total de dados agregados medidos usando SEC-UPLC

Número do lote	Temperatura (°C)	% Total de agregados (via SEC-UPLC)						
Tempo (meses)		0	1	2	3	6	9	12
# 18169-62 150 mg/mL, citrato 20 mM, pH 5,3, ArHCl 150 mM, PS-80 a 0,05% (1 mL em frasco de Schott de 3 mL)	5	2,5	2,5	2,4	2,5	2,5	2,6	2,6
	25	2,5	2,6	2,7	2,8	3,2	3,4	3,6
	40	2,5	3,7	4,2	5,1	11,6	NT	NT
# 18169-64 150 mg/mL, citrato 20 mM, pH 5,3, ArHCl 150 mM, PS-80 a 0,05% (1 mL na seringa BD Hypak, agulha 27G)	5	2,5	2,5	2,4	2,5	2,6	2,7	2,7
	25	2,5	2,7	2,7	2,9	3,2	3,5	3,7
	40	2,5	3,6	4,1	5	11,9	NT	NT
# 18169-66 150 mg/mL, citrato 20 mM, pH 5,3, ArHCl 150 mM, metionina 25 mM, PS-80 a 0,05% (1 mL na seringa BD Hypak, agulha 27G)	5	2,5	2,5	2,4	2,5	2,5	2,6	2,6
	25	2,5	2,6	2,6	2,7	3	3,2	3,2
	40	2,5	3,4	3,8	4,7	11	NT	NT
# 18169-67 150 mg/mL, citrato 20 mM, pH 5,3, trealose 200 mM, PS-80 a 0,05% (1 mL na seringa BD Hypak, agulha 27G)	5	3	3	2,9	3	3,1	3,3	3,3
	25	3	3,3	3,5	3,8	4,2	4,6	4,9
	40	3	4,5	5,3	6,2	10	NT	NT
# 18169-72 250 mg/mL, citrato 20 mM, pH 5,3, ArgHCl 150 mM, metionina 25 mM, PS-80 a 0,05% (1 mL na seringa BD Hypak, agulha 27G)	5	1,4	1,4	1,3	1,5	1,5	1,7	1,7
	25	1,4	1,8	1,9	2,2	2,6	3	3,2
	40	1,4	3,1	3,9	5,2	14,9	NT	NT

Os dados também indicam que não há diferença significativa no nível de agregado para formulações mantidas em uma seringa pré-preenchida (18169-64) e em um frasco (18169-62).

*Dados de partículas subvisíveis (SVP):* Embora os dados de agregação fossem promissores para uma formulação líquida estável, havia algumas indicações de contagens altas de partículas subvisíveis (SVP) por meio de imageamento de micro fluxo, MFI (Tabelas 4, 5 e 6).

**Tabela 4.** Total de partículas subvisíveis/mL (MFI)

Número do lote	Temp (°C)	Total de partículas/mL (MFI)					
Tempo (meses)		0	1	3	6	9	12
# 18169-62 150 mg/mL, citrato 20 mM, pH 5,3, ArHCl 150 mM, PS-80 a 0,05% (1 mL em frasco de Schott de 3 mL)	5	13616	5005	8126	40458	41396	16988
	25	13616	26252	34202	311593	518112	665292
	40	13616	852037	776326	2397797	NT	NT
# 18169-64 150 mg/mL, citrato 20 mM, pH 5,3, ArHCl 150 mM, PS-80 a 0,05% (1 mL na seringa BD Hypak, agulha 27G)	5	43413	35963	15064	5777	8076	8058
	25	43413	26300	68631	156553	278577	208307
	40	43413	708893	1467637	2111368	NT	NT
# 18169-66 150 mg/mL, citrato 20 mM, pH 5,3, ArHCl 150 mM, metionina 25 mM, PS-80 a 0,05% (1 mL na seringa BD Hypak, agulha 27G)	5	19412	6536	11753	13795	16704	13263
	25	19412	15750	136088	236386	427144	566722
	40	19412	1230328	2023654	2003136	NT	NT



# 18169-67 150 mg/mL, citrato 20 mM, pH 5,3, trealose 200 mM, PS-80 a 0,05% (1 mL na seringa BD Hypak, agulha 27G)	5	25444	23998	17266	27329	135928	199303
	25	25444	113162	701629	527438	1602970	927081
	40	25444	178718	1183228	542746	NT	NT
# 18169-72 250 mg/mL, citrato 20 mM, pH 5,3, ArgHCl 150 mM, metionina 25 mM, PS-80 a 0,05% (1 mL na seringa BD Hypak, agulha 27G)	5	13482	17008	7760	10865	10633	21093
	25	13482	12741	12641	18973	63098	15062
	40	13482	25198	10126	21717	NT	NT
Frasco de tampão de referência	5	22263	NT	86201	51685	NT	26252
	25	22263	NT	57860	40409	NT	27959
	40	22263	NT	56260	33898	NT	NT
Tampão de Referência PFS	5	38840	NT	76251	64420	NT	15914
	25	38840	NT	105080	40830	NT	71146
	40	38840	NT	123503	236238	NT	NT

Tabela 5. Partículas subvisíveis (&gt; 10 µm)/mL (MFI)

Número do lote	Temp	Partículas/mL (tamanho> 10 µm)					
Tempo (meses)		0	1	3	6	9	12
# 18169-62 150 mg/mL, citrato 20 mM, pH 5,3, ArHCl 150 mM, PS-80 a 0,05% (1 mL em frasco de Schott de 3 mL)	5	161	94	59	98	374	78
	25	161	128	450	6376	3781	10313
	40	161	4019	50460	57928	NT	NT
# 18169-64 150 mg/mL, citrato 20 mM, pH 5,3, ArHCl 150 mM, PS-80 a 0,05% (1 mL na seringa BD Hypak, agulha 27G)	5	195	274	300	128	1934	52
	25	195	872	1438	6298	5127	7942
	40	195	20497	36305	106721	NT	NT
# 18169-66 150 mg/mL, citrato 20 mM, pH 5,3, ArHCl 150 mM, metionina 25 mM, PS-80 a 0,05% (1 mL na seringa BD Hypak, agulha 27G)	5	331	70	204	74	1014	104
	25	331	70	71	7838	7696	19841
	40	331	32528	60842	91013	NT	NT
# 18169-67 150 mg/mL, citrato 20 mM, pH 5,3, trealose 200 mM, PS-80 a 0,05% (1 mL na seringa BD Hypak, agulha 27G)	5	243	698	170	292	4273	2997
	25	243	3593	15312	41916	52119	67621
	40	243	5843	35691	27479	NT	NT
# 18169-72 250 mg/mL, citrato 20 mM, pH 5,3, ArgHCl 150 mM, metionina 25 mM, PS-80 a 0,05% (1 mL na seringa BD Hypak, agulha 27G)	5	995	3121	688	1272	796	870
	25	995	1112	860	1036	3039	308
	40	995	2511	786	1816	NT	NT
Frasco de tampão de referência	5	305	NT	852	20	NT	20
	25	305	NT	366	64	NT	54
	40	305	NT	108	194	NT	NT
Tampão de Referência PFS	5	258	NT	494	370	NT	114
	25	258	NT	348	238	NT	420
	40	258	NT	822	968	NT	NT

Tabela 6. Partículas subvisíveis (&gt; 25 µm)/mL (MFI)

Número do lote	Temperatura	Partículas (> 25 µm); <= 600					
Tempo (meses)		0	1	3	6	9	12
# 18169-62 150 mg/mL, citrato 20 mM, pH 5,3, ArHCl 150 mM, PS-80 a 0,05% (1 mL em frasco de Schott de 3 mL)	5	20	22	6	4	16	0
	25	20	8	20	94	66	160
	40	20	3123	4727	679	NT	NT
# 18169-64 150 mg/mL, citrato 20 mM, pH 5,3, ArHCl 150 mM, PS-80 a 0,05% (1 mL na seringa BD Hypak, agulha 27G)	5	27	24	16	2	1644	0
	25	27	498	132	420	326	640
	40	27	2395	2735	12288	NT	NT

# 18169-66 150 mg/mL, citrato 20 mM, pH 5,3, ArHCl 150 mM, metionina 25 mM, PS-80 a 0,05% (1 mL na seringa BD Hypak, agulha 27G)	5	117	2	66	6	560	2
	25	179	2	162	560	712	1570
	40	117	3471	6200	9676	NT	NT
# 18169-67 150 mg/mL, citrato 20 mM, pH 5,3, trealose 200 mM, PS-80 a 0,05% (1 mL na seringa BD Hypak, agulha 27G)	5	43	410	42	80	908	428
	25	43	804	2091	5815	5711	8822
	40	43	624	5067	2915	NT	NT
# 18169-72 250 mg/mL, citrato 20 mM, pH 5,3, ArgHCl 150 mM, metionina 25 mM, PS-80 a 0,05% (1 mL na seringa BD Hypak, agulha 27G)	5	563	2307	460	850	450	308
	25	563	710	402	630	816	124
	40	563	1512	488	1308	NT	NT
Frasco de tampão de referência	5	47	NT	88	4	NT	0
	25	47	NT	48	11	NT	2
	40	47	NT	10	32	NT	NT
Tampão de Referência PFS	5	10	NT	10	6	NT	0
	25	10	NT	10	2	NT	6
	40	10	NT	34	4	NT	NT

[0114] No entanto, acredita-se que esses SVP surjam principalmente do manuseio e processamento da substância de fármacos STX-100 (DS) durante o processo de UF/DF em escala de laboratório, armazenamento de pré-enchimento, envio ao laboratório de testes e possíveis problemas com o método de teste. A taxa de crescimento de SVP > 10 um (selecionada com mais sensibilidade pela MFI) não sugere instabilidade significativa em nenhuma das formulações contendo arginina-HCl, exceto 18169-67 que contém 200 mM de trealose. Observa-se também que a contagem de SVP é maior nas formulações na apresentação de seringas pré-preenchida em comparação com a apresentação do frasco. Isso indica que o método de teste também identificou uma quantidade significativa de micro-gotas de óleo de silicone que geralmente ocorrem nessas seringas. A análise de SVP pelo método HIAC (conforme USP-788), baseada na obscuridade da luz, não indicou instabilidade nas condições de armazenamento desejadas de 5°C (Tabelas 7 e 8).

**Tabela 7. Partículas subvisíveis (> 10 µm)/mL (HIAC)**

Número do lote	Temperatura	Partículas (> 10 µm); ≤ 6000					
Tempo (meses)		0	1	3	6	9	12
# 18169-62 150 mg/mL, citrato 20 mM, pH 5,3, ArHCl 150 mM, PS-80 a 0,05% (1 mL em frasco de Schott de 3 mL)	5	23	32	22	46	61	63
	25	23	111	175	55	645	936
	40	23	1594	3574	83	NT	NT
# 18169-64 150 mg/mL, citrato 20 mM, pH 5,3, ArHCl 150 mM, PS-80 a 0,05% (1 mL na seringa BD Hypak, agulha 27G)	5	74	7	92	69	107	63
	25	74	185	246	464	732	548
	40	74	3910	5749	213	NT	NT
# 18169-66 150 mg/mL, citrato 20 mM, pH 5,3, ArHCl 150 mM, metionina 25 mM, PS-80 a 0,05% (1 mL na seringa BD Hypak, agulha 27G)	5	57	56	104	77	138	40
	25	57	80	526	260	709	743
	40	57	4126	10947	267	NT	NT
# 18169-67 150 mg/mL, citrato 20 mM, pH 5,3, trealose 200 mM, PS-80 a 0,05% (1 mL na seringa BD Hypak, agulha 27G)	5	71	83	92	53	215	137
	25	71	179	4292	289	387	1904
	40	71	1161	4993	184	NT	NT
# 18169-72 250 mg/mL, citrato 20 mM, pH 5,3, ArgHCl 150 mM, metionina 25 mM, PS-80 a 0,05% (1 mL na seringa BD Hypak, agulha 27G)	5	51	72	141	96	280	37
	25	51	132	117	105	442	77
	40	51	72	105	232	NT	NT
Frasco de tampão de referência	5	41	NT	92	77	NT	48
	25	41	NT	101	53	NT	61
	40	41	NT	44	98	NT	NT
Tampão de Referência PFS	5	233	NT	251	325	NT	111
	25	233	NT	224	416	NT	231
	40	233	NT	415	714	NT	NT

**Tabela 8. Partículas subvisíveis (> 25 µm)/mL (HIAC)**

Número do lote	Temperatura	Partículas (> 25 µm); ≤ 600					
Tempo (meses)		0	1	3	6	9	12
# 18169-62 150 mg/mL, citrato 20 mM, pH 5,3, ArHCl 150 mM, PS-80 a 0,05% (1 mL em frasco de Schott de 3 mL)	5	2	0	1	0	2	0
	25	2	1	1	0	7	5
	40	2	47	44	0	NT	NT
# 18169-64 150 mg/mL, citrato 20 mM, pH 5,3, ArHCl 150 mM, PS-80 a 0,05% (1 mL na seringa BD Hypak, agulha 27G)	5	1	0	1	0	2	0
	25	1	3	5	3	30	5
	40	1	101	118	8	NT	NT
# 18169-66 150 mg/mL, citrato 20 mM, pH 5,3, ArHCl 150 mM, metionina 25 mM, PS-80 a 0,05% (1 mL na seringa BD Hypak, agulha 27G)	5	1	2	3	3	2	2
	25	1	6	10	6	30	3
	40	1	77	482	18	NT	NT
# 18169-67 150 mg/mL, citrato 20 mM, pH 5,3, trealose 200 mM, PS-80 a 0,05% (1 mL na seringa BD Hypak, agulha 27G)	5	1	4	2	0	10	1
	25	1	5	102	10	10	16
	40	1	21	75	12	NT	NT
# 18169-72 250 mg/mL, citrato 20 mM, pH 5,3, ArgHCl 150 mM, metionina 25 mM, PS-80 a 0,05% (1 mL na seringa BD Hypak, agulha 27G)	5	2	4	5	13	35	2
	25	2	11	8	2	32	7
	40	2	7	4	20	NT	NT

Frasco de tampão de referência	5	0	NT	1	0	NT	0
	25	0	NT	0	0	NT	0
	40	0	NT	0	1	NT	NT
Tampão de Referência PFS	5	2	NT	0	0	NT	0
	25	2	NT	3	7	NT	4
	40	2	NT	8	15	NT	NT

**Dados de oxidação:** As análises de oxidação forçada no passado em amostras de STX-100 revelaram propensão à oxidação no Met-55 contido na segunda CDR de cadeia pesada, juntamente com duas outras metioninas (Met-255 e Met-431) na região Fc. Os estudos de relação estrutura-atividade revelaram que a oxidação nesses resíduos não leva a nenhuma alteração na atividade de ligação ao antígeno. Neste estudo, também foi investigado se a oxidação nesses resíduos ao longo do tempo leva à instabilidade devido à presença de polissorbato-80 como provável agente oxidante. A % de oxidação foi determinada usando um método LCMS após a geração em resíduos Met contidos nos peptídeos correspondentes gerados (Met-55 no peptídeo H2, Met-255 no peptídeo H15 e Met-431 no peptídeo H30) por clivagem LysC. No geral, não houve aumento maior da oxidação em cada sítio, embora a presença de metionina como excipiente na formulação suprimisse essa reação de oxidação (Tabelas 9A e 9B).

**Tabela 9A.** Análise de oxidação em formulações armazenadas a 5°C

Lote#	t=0			t = 6 meses a 5°C			t = 12 meses a 5°C		
	%H2-Ox	%H15 -Ox	%H30 -Ox	%H2 -Ox	%H15 -Ox	%H30 -Ox	%H2-Ox	%H15 -Ox	%H30 -Ox
<b># 18169-62</b> 150 mg/mL, citrato 20 mM, pH 5,3, ArHCl 150 mM, PS-80 a 0,05% (1 mL em frasco de Schott de 3 mL)	7,9	7,9	5,9	11,2	9,7	6,7	8,40	7,20	4,90
<b># 18169-64</b> 150 mg/mL, citrato 20 mM, pH 5,3, ArHCl 150 mM, PS-80 a 0,05% (1 mL na seringa BD Hypak, agulha 27G)	7,9	8,1	6,2	10,3	9,4	5,9	8,70	7,40	5,00
<b># 18169-66</b> 150 mg/mL, citrato 20 mM, pH 5,3, ArHCl 150 mM, metionina 25 mM, PS-80 a 0,05% (1 mL na seringa BD Hypak, agulha 27G)	7,8	8,2	6,3	8,5	8,7	5,3	7,00	7,00	4,90
<b># 18169-67</b> 150 mg/mL, citrato 20 mM, pH 5,3, trealose 200 mM, PS-80 a 0,05% (1 mL na seringa BD Hypak, agulha 27G)	8,1	8,3	6,5	9,6	9,5	5,8	7,50	7,10	4,90

# 18169-72 250 mg/mL, citrato 20 mM, pH 5,3, ArgHCl 150 mM, metionina 25 mM, PS-80 a 0,05% (1 mL na seringa BD Hypak, agulha 27G)	7	5,7	3,4	9	7,8	4,2	6,60	5,10	2,60
---	---	-----	-----	---	-----	-----	------	------	------

**Tabela 9B. Análise de oxidação em formulações armazenadas a 25°C**

Lote#	t=0			t = 6 meses a 25°C			t=12 meses a 25 °C		
	%H2-Ox	%H15-Ox	%H30-Ox	%H2-Ox	%H15-Ox	%H30-Ox	%H2-Ox	%H15-Ox	%H30-Ox
# 18169-62 150 mg/mL, citrato 20 mM, pH 5,3, ArHCl 150 mM, PS- 80 a 0,05% (1 mL em frasco de Schott de 3 mL)	7,9	7,9	5,9	17,7	10,4	6,8	18,40	8,50	5,80
# 18169-64 150 mg/mL, citrato 20 mM, pH 5,3, ArHCl 150 mM, PS- 80 a 0,05% (1 mL na seringa BD Hypak, agulha 27G)	7,9	8,1	6,2	17	10,2	6,2	18,40%	8,40	5,60
# 18169-66 150 mg/mL, citrato 20 mM, pH 5,3, ArHCl 150 mM, metionina 25 mM, PS-80 a 0,05% (1 mL na seringa BD Hypak, agulha 27G)	7,8	8,2	6,3	10,2	8,8	5,8	9,00%	7,20	5,20
# 18169-67 150 mg/mL, citrato 20 mM, pH 5,3, trealose 200 mM, PS-80 a 0,05% (1 mL na seringa BD Hypak, agulha 27G)	8,1	8,3	6,5	13,6	9,8	6,2	12,90%	8,10	5,50
# 18169-72 250 mg/mL, citrato 20 mM, pH 5,3, ArgHCl 150 mM, metionina 25 mM, PS-80 a 0,05% (1 mL na seringa BD Hypak, agulha 27G)	7	5,7	3,4	10,8	7,8	4	9,10%	5,70	2,90

**Dados de partículas visíveis:** As observações de aparência (partículas) não revelaram aumento significativo de partículas visíveis para qualquer formulação ao longo do período de armazenamento de 12 meses a 5°C (Tabela 10A). As partículas visíveis aparecem a 25°C durante o armazenamento a longo prazo (Tabela 10B) e provavelmente estão ligadas ao aumento da grande SVP (> 25 um) a esta temperatura.

**Tabela 10A. Avaliação a longo prazo de partículas visíveis a 5°C**

Lote#	Meses a 5°C						
	0	1	2	3	6	9	12
# 18169-62 150 mg/mL, citrato 20 mM, pH 5,3, ArHCl 150 mM, PS-80 a 0,05% (1 mL em frasco de Schott de 3 mL)	Particulados observados não visíveis	Particulados observados não visíveis	Particulados observados não visíveis	Particulados observados não visíveis	Particulados observados não visíveis	Particulados observados não visíveis	* Particulados observados não visíveis

<b># 18169-64</b> 150 mg/mL, citrato 20 mM, pH 5,3, ArHCl 150 mM, PS-80 a 0,05% (1 mL na seringa BD Hypak, agulha 27G)	Partículas observadas não visíveis	Particulados observados não visíveis	Particulados observados não visíveis	Particulados observados não visíveis	Particulados observados não visíveis	Particulados observados não visíveis	Particulados observados não visíveis
<b># 18169-66</b> 150 mg/mL, citrato 20 mM, pH 5,3, ArHCl 150 mM, metionina 25 mM, PS-80 a 0,05% (1 mL na seringa BD Hypak, agulha 27G)	Partículas observadas não visíveis	Particulados observados não visíveis	Particulados observados não visíveis	Particulados observados não visíveis	Particulados observados não visíveis	Particulados observados não visíveis	* Particulados observados não visíveis
<b># 18169-67</b> 150 mg/mL, citrato 20 mM, pH 5,3, trealose 200 mM, PS-80 a 0,05% (1 mL na seringa BD Hypak, agulha 27G)	Partículas observadas não visíveis	Particulados observados não visíveis	Particulados observados não visíveis	Particulados observados não visíveis	Particulados observados não visíveis	Particulados observados não visíveis	Particulados observados não visíveis
<b># 18169-72</b> 250 mg/mL, citrato 20 mM, pH 5,3, ArHCl 150 mM, metionina 25 mM, PS-80 a 0,05% (1 mL na seringa BD Hypak, agulha 27G)	Partículas observadas não visíveis	Partículas observadas não visíveis	Partículas observadas não visíveis	Partículas observadas não visíveis	Particulados observados não visíveis	Particulados observados não visíveis	* Particulados observados não visíveis
Frasco de tampão de referência	Partículas observadas não visíveis	NT	NT	Partículas observadas não visíveis	Partícula de flocos brancos	NT	Partículas observadas não visíveis
Tampão de Referência PFS	Partículas observadas não visíveis	NT	NT	Partículas observadas não visíveis	Partículas observadas não visíveis	NT	Partículas observadas não visíveis

\*As amostras foram reexaminadas após o relatório inicial revelar algumas partículas. Os exames internos em frascos para injetáveis/seringas em triplicado não mostraram quaisquer partículas visíveis. Pensa-se, portanto, que as observações iniciais surgem de erro no manuseio ou erro humano.

**Tabela 10B.** Avaliação a longo prazo de partículas visíveis a 25°C

Lote#	Meses a 25°C.						
	0	1	2	3	6	9	12
<b># 18169-62</b> 150 mg/mL, citrato 20 mM, pH 5,3, ArHCl 150 mM, PS-80 a 0,05% (1 mL em frasco de Schott de 3 mL)	Particulados observados não visíveis	Particulados observados não visíveis	Particulados observados não visíveis	Particulados observados não visíveis	Particulados observados não visíveis	Particulados observados não visíveis	Particulados observados não visíveis
<b># 18169-64</b> 150 mg/mL, citrato 20 mM, pH 5,3, ArHCl 150 mM, PS-80 a 0,05% (1 mL na seringa BD Hypak, agulha 27G)	Partículas observadas não visíveis	Particulados observados não visíveis	Particulados observados não visíveis	Particulados observados não visíveis	Particulados observados não visíveis	Particulados observados não visíveis	Particulados observados não visíveis
<b># 18169-66</b> 150 mg/mL, citrato 20 mM, pH 5,3, ArHCl 150 mM, metionina 25 mM, PS-80 a 0,05% (1 mL na seringa BD Hypak, agulha 27G)	Partículas observadas não visíveis	Particulados observados não visíveis	Particulados observados não visíveis	Particulados observados não visíveis	Duas outras partículas brancas	Particulados observados semelhantes a fibras brancas	Particulados redondos pequenos

# 18169-67 150 mg/mL, citrato 20 mM, pH 5,3, trealose 200 mM, PS-80 a 0,05% (1 mL na seringa BD Hypak, agulha 27G)	Partículas observadas não visíveis	Particulados observados não visíveis	Particulados observados não visíveis	Particulados observados não visíveis	Particulados observados não visíveis	Particulados observados não visíveis	Particulados semelhantes à fibra pequena
# 18169-72 250 mg/mL, citrato 20 mM, pH 5,3, ArgHCl 150 mM, metionina 25 mM, PS-80 a 0,05% (1 mL na seringa BD Hypak, agulha 27G)	Partículas observadas não visíveis	Partículas observadas não visíveis	Partículas observadas não visíveis	Partículas observadas não visíveis	Particulados observados não visíveis	Particulados observados não visíveis	Particulados observados não visíveis
Frasco de tampão de referência	Partículas observadas não visíveis	NT	NT	Fibra branca e 10 outras partículas	Particulados observados não visíveis	NT	Particulados observados não visíveis
Tampão de Referência PFS	Partículas observadas não visíveis	NT	NT	Partículas observadas não visíveis	Partículas observadas não visíveis	NT	Partículas observadas não visíveis

**Ensaios por marco:** Outros ensaios de estabilidade, como CE-SDS (não reduzido), iCIEF, osmolalidade, viscosidade e potência testados em t = 0, 6, 12 meses, são agrupados aqui como ensaios por marcos. Esses dados não revelam nenhuma degradação significativa nas amostras a 5°C por 12 meses (Tabelas 11A a 11E).

**Tabela 11A.** Ensaios por marcos realizados em t = 0

Ensaio (t = 0)		Formulação				
		18169-62	18169-64	18169-66	18169-67	18169-72
CE-SDS (não reduzido)	% de Pureza	95,68	95,315	95,58	95,435	93,735
	% Maior Impureza Única	1,75	1,825	1,78	1,8	3,245
iCIEF	% Pico principal	53	53	53,55	52,85	55,2
	% De isoforma acídica	41,75	42,3	41,55	42,35	40,15
	% De isoforma básica	5,2	4,75	4,9	4,75	4,65
Osmolalidade (congelamento pt)	mOsm/kg	368	430	417	350	417
Viscosidade (cP) a 25°C		6,14	6,49	6,73	9,64	46,7
Potência	% De potência relativa (95% UCL, 95% LCL)	103 (109, 97)	106 (120, 95)	95 (102, 88)	96 (102, 91)	96 (107, 86)

**Tabela 11B.** Ensaios por marcos realizados em t = 6 meses em formulações armazenadas a 5°C

Ensaio (t = 6M) 5°C		Formulação				
		18169-62	18169-64	18169-66	18169-67	18169-72
CE-SDS (não reduzido)	% de Pureza	94,49	94,76	94,82	94,62	92,9
	% Maior Impureza Única	1,86	1,83	1,8	1,77	3,08
iCIEF	% Pico principal	51,6	52,1	52,5	49,6	54,3
	% De isoforma acídica	42,5	41,7	41,6	44,2	40,5
	% De isoforma básica	5,9	6,2	5,9	6,1	5,3
Osmolalidade (congelamento pt)	mOsm/kg	NT	NT	NT	NT	NT
Viscosidade (cP) a 5°C		14	13,9	14,8	24	146,5
Potência	%	98 (88, 108)	105 (89, 125)	96 (77, 120)	114 (108, 119)	107 (92, 123)

**Tabela 11C.** Ensaio por marcos realizados em t = 6 meses em formulações armazenadas a 25°C

Ensaio (t = 6M) 25°C		Formulação				
		18169-62	18169-64	18169-66	18169-67	18169-72
CE-SDS (não reduzido)	% de Pureza	90,5	90,4	90,43	91,55	90,04
	% Maior Impureza Única	2,13	2,11	2,09	2,02	3,48
iCIEF	% Pico principal	41,6	41,8	42,2	39,6	43,9
	% De isoforma acídica	48,6	48,3	48	51,8	46,2
	% De isoforma básica	9,8	9,9	9,8	8,6	9,9
Osmolalidade (congelamento pt)	mOsm/kg	NT	NT	NT	NT	NT
Viscosidade (cP) a 25°C		6,3	6,4	6,4	9,3	46,2
Potência	%	87 (85, 89)	89 (85, 92)	92 (91, 94)	93 (86, 102)	95 (93, 97)

**Tabela 11D.** Ensaio por marcos realizados em t = 12 meses em formulações armazenadas a 5°C

Ensaio (t = 12M) 5°C		Formulação				
		18169-62	18169-64	18169-66	18169-67	18169-72
CE-SDS (não reduzido)	% de Pureza	95,21	95,03	94,95	94,69	92,88
	% Maior Impureza Única	1,61	1,7	1,75	1,88	3,44
iCIEF	% Pico principal	51,6	51,5	51	51,1	53,4
	% De isoforma acídica	42,5	42,5	42,9	43,2	41,2
	% De isoforma básica	5,9	6	6,1	5,7	5,4
Osmolalidade (congelamento pt)	mOsm/kg	360	170	181	146	182
Viscosidade (cP) a 5°C		15,2	14,4	15	24,5	152,6



**Tabela 11E.** Ensaios por marcos realizados em t = 12 meses em formulações armazenadas a 25°C

Ensaio (t = 12M) 25°C		Formulação				
		18169-62	18169-64	18169-66	18169-67	18169-72
CE-SDS (não reduzido)	% de Pureza	87,32	87,25	87,24	88,72	87,35
	% Maior Impureza Única	2,85	2,94	2,92	2,46	4,24
iCIEF	% Pico principal	33,5	34	34,1	30,3	34,9
	% De isoforma ácida	55,3	54,9	54,8	60,6	53,3
	% De isoforma básica	11,3	11	11,1	9,1	11,8
Osmolalidade (congelamento pt)	mOsm/kg	370	169	182	130	174
Viscosidade (cP) a 25°C		15,2	6,5	6,71	6,69	9,79

**Dados de cor, clareza e pH:** A cor visualmente observada em todas as formulações, exceto 18169-72, permaneceu abaixo de BY3 (BY4-BY5 ou BY3-BY4) durante o período de 1 ano a 5°C. A cor de 18169-72 estava entre BY3-BY4 até 9 meses e foi observada como BY3-BY2 aos 12 meses. A clareza de todas as formulações permaneceu abaixo de 30 NTU (6-18 NTU ou 18-30 NTU) durante todo o armazenamento a 5°C.

**Conclusão:** As formulações 18169-62, 18169-64, 18169-66 e 18169-72 foram consideradas estáveis dentro de limites aceitáveis ao longo de 1 ano. As tendências nos atributos mais críticos: % de agregados totais e particulados subvisíveis (HIAC) durante esse período sugerem que as formulações 18169-64 e 18169-66 são adequadas para serem perseguidas para um medicamento com seringa pré-cheia (PFS) (DP)

### **Exemplo 3: Caracterização da viscosidade da formulação**

[0115] O impacto do pH e da concentração de metionina na viscosidade da formulação STX-100 em alta concentração foi avaliado usando um estudo fatorial completo do experimento (DOE). Os seguintes parâmetros de formulação foram variados:

- 1) pH: 5,0, 5,5, 6,0
- 2) Metionina: 0, 10, 25 mM
- 3) Concentração de proteína: 150, 220, 240 e 260 mg/mL

O tampão de formulação do núcleo foi: ácido cítrico/Na-citrato 20 mM, arginina HCl 150 mM, PS80 a 0,05%.

[0116] Os dados indicaram que a viscosidade da formulação STX-100 não foi significativamente afetada pelo pH ou pela concentração de metionina em torno de uma formulação central contendo ácido cítrico/Na-citrato 20 mM, Arginina-HCl 150 mM, 0,05% de PS-80. Os dados de 5°C e 25°C não revelaram valores de  $p$  inferiores a 0,05 para cada um dos dois parâmetros de formulação. O único parâmetro da solução com um impacto significativo na viscosidade foi a concentração de proteína esperada na faixa examinada. Estes resultados mostram que os níveis de pH e excipiente podem variar dentro deste espaço de projeto sem afetar negativamente a viscosidade da formulação.

#### **Exemplo 4: Estudo de bracketing de produtos de fármacos**

[0117] Este estudo foi realizado para examinar o efeito de aumentar o teor de metionina de 5 mM para 10 mM, bem como diminuir o nível de polissorbato-80 de 0,05% para 0,03% nos atributos de estabilidade a longo prazo.

[0118] As duas formulações a seguir foram preparadas e colocadas em seringas pré-cheias representativas (0,8 mL de preenchimento com BD Hypak STW 27G PFS).

[0119] *Formulação A:* STX-100 150 mg/mL, Na-citrato/ácido cítrico 20 mM, pH 5,5, Arginina-HCl 150 mM, Metionina 10 mM, polissorbato-80 a 0,05%.

[0120] *Formulação B:* STX-100 150 mg/mL, Na-citrato/ácido cítrico 20 mM, pH 5,5, Arginina-HCl 150 mM, Metionina 5 mM, polissorbato-80 a 0,03%.

[0121] Os resultados da estabilidade a longo prazo a 2-8°C apresentaram estabilidade equivalente com base nas tendências em % de HMW e partículas subvisíveis. Os dados de estabilidade também foram coletados a 25°C e 40°C para fins informativos. As formulações não

pareceram significativamente diferentes em seu teor de espécies oxidadas.

[0122] Assim, os dados mostram flexibilidade na concentração de polissorbato-80 e metionina para a formulação.

#### **Exemplo 5: Estudo de Estabilidade do Processo**

[0123] Este estudo avaliou o impacto de diferentes níveis de surfactante de polissorbato-80 na estabilidade do STX-100 em recipientes DS de pequena escala (frascos ou bolsas de PC) e DP representativo em seringas pré-cheias (PFS). A formulação foi submetida a dois estresses diferentes:

- a) Vários ciclos de gelo-degelo (1, 3 e 5 ciclos de gelo-degelo),
- b) Estresse por agitação induzida por agitação (agitação orbital a 650 rpm por 72 horas em condições ambientais) e
- c) Tempo de espera do ambiente representativo (somente nível PS-80 selecionado).

[0124] Os diferentes níveis de PS-80 selecionados para avaliações foram 0, 0,01, 0,02, 0,05, 0,08, 0,1% p/v em 150 mg/mL de formulação STX-100 contendo Na-citrato/ácido cítrico 20 mM, pH 5,5, Arginina-HCl 150 mM, Metionina 5 mM. O sistema de fechamento do recipiente usado para as avaliações foram frascos de polycarbonato (1 mL de preenchimento em frasco de 5 mL), bolsa DS pequena (capacidade de 30 mL, 5 ou 15 mL de preenchimento), seringas PFS (BD Hypak 47368319 com pistões (47165919) preenchidos com 0,8 mL ou 0,3 mL a 150 mg/mL ou 0,3 mL a 40 mg/mL).

[0125] Os atributos de qualidade do produto examinados foram: aparência visível (partículas), turbidez (A340), % de agregados totais (SEC), concentração de proteínas (método SoloVPE) e partículas subvisíveis (MFI)

[0126] Os resultados do volume alvo de preenchimento do produto de fármaco de 0,8 mL a 150 mg/mL STX-100 mostraram que a agitação

das seringas STX-100 a 650 rpm por 72 horas à temperatura ambiente protegida da luz tem um impacto mínimo nas partículas visíveis, desde que 0,01% de PS-80 esteja presente na formulação. Uma partícula semelhante a poeira foi observada na amostra de PS80 a 0,02%, mas isso parece ambiental. Houve apenas um aumento de 0,05-0,1% no agregado solúvel após agitação nas formulações contendo 0-0,01% de PS80, enquanto nenhum aumento observável no agregado solúvel em outras formulações. Os dados de turbidez não indicaram aumento substancial no OD340 para todas as formulações, exceto a com 0,1% de PS80, indicando alguma contribuição de um nível relativamente alto de PS80. No entanto, os dados SVP indicam que não há tendência substancial à formação de partículas, desde que o PS80 esteja presente. Os resultados do estudo de processo sugeriram que 0,05% p/v era um nível ideal de polissorbato-80 para proteger a formulação contra estresse por congelamento e descongelamento, estresse por agitação e tempos de espera do processo. Uma especificação sugerida para o nível de PS80 para fins de desenvolvimento de produto é 0,05 +/- 0,025% p/v.

#### **Exemplo 6: Seleção de Formulação**

[0127] Com base em todos os estudos acima, a seguinte formulação STX-100 exibiu estabilidade aceitável durante o armazenamento a longo prazo (1 ano a 2-8°C), estresse por agitação no pior caso (650 rpm por 72 h) e estresse por congelamento e descongelamento no pior caso (5 ciclos de congelamento e descongelamento): 150 mg/mL STX-100, Na-citrato/ácido cítrico 20 mM, Arginina-HCl 150 mM, Metionina 5 mM, 0,05% p/v de polissorbato-80, pH 5,5.

[0128] Com base nas tendências dos atributos de estabilidade, esta formulação garante estabilidade superior a 24 meses a 2-8°C em um produto representativo de seringa pré-preenchida.

#### **Exemplo 7: Estabilidade de formulações STX-100 compreendendo**

**excipientes contendo grupo tiol**

[0129] A adição de excipientes contendo o grupo tiol a uma formulação STX-100 reduz a agregação conforme determinado pelo desenvolvimento de espécies de alto peso molecular durante o armazenamento.

[0130] A formulação de controle STX-100 tinha 150 mg/mL de STX-100, Na-citrato/ácido cítrico 20 mM, L-Arginina HCl 150 mM, Metionina 5 mM, 0,05% de Polissorbato-80, pH 5,5. A formulação de controle foi enriquecida com um grupo tiol contendo excipiente: GSH. As formulações foram armazenadas a 25°C e 40°C. Como mostrado na **Figura 3**, a adição de GSH reduziu a agregação durante o armazenamento.

[0131] A adição de glutathione impactou negativamente outro anticorpo, o STX200, onde foi observado um aumento na agregação (**Figura 5**). O STX 200 é uma molécula aglicosilada, demonstrando baixa estabilidade conformacional a temperaturas mais altas. Portanto, o desdobramento da molécula expõe o grupo tiol, tornando-o mais suscetível à reticulação com o tiol na glutathione e promovendo maior agregação. A glutathione não teve nenhum efeito na cinética de agregação do SB4 (BENEPALI®, um biossimilar etanercept com referência a Enbrel®) a 25°C, mas facilitou a agregação mais rápida a 40°C (**Figura 4**).

**Exemplo 8: Dados de estabilidade para formulações STX-100**

[0132] Os dados do estudo de estabilidade para formulações de 50 e 100 mg/mL STX-100 em tampão de citrato de sódio 20 mM contendo Arg.HCL 150 mM, Metionina 5 mM, PS80 a 0,05%, a pH 5,5 preenchido em seringas (0,8 mL/seringa) suportam a estabilidade de 36 meses quando armazenados a 2-8°C. Isso é baseado em dados de estabilidade nas condições de armazenamento de longo prazo de 2-8°C. Ver as **Tabelas 12 e 13** abaixo. Com base nesses dados de produto de fármaco, uma estabilidade por 36 meses pode ser atribuída a uma

formulação a 70 mg/mL (0,8 mL/seringa) selecionada para fornecer uma dose de 56 mg.

**Tabela 12:** Dados de estabilidade para produto de fármaco STX-100 a 100 mg/mL em Seringa de 1 mL, armazenada de 2-8°C @ @

Teste/Atributo	Critérios de Aceitação	0 mo	01 mo	03 mo <sup>2</sup>	06 mo <sup>2</sup>	09 mo <sup>2</sup>	12 mo <sup>2</sup>	18 meses
Aparência - Clareza (NTU)	Resultados do Relatório	6 NTU <Amostra <18 NTU	18 NTU < Amostra < 30 NTU	N/A	N/A	N/A	N/A	6 NTU <Amostra <18 NTU
Aparência - Clareza: LT 50 NTU	Em conformidade	Em conformidade	Em conformidade	N/A	N/A	N/A	N/A	Em conformidade
Aparência - Cor (Escala BY)	Resultados do Relatório	4 <= Amostra 3	5 <= Amostra 4	N/A	N/A	N/A	N/A	5 <= Amostra 4
Aparência - Cor (BY Scale): LT BY2	Em conformidade	Em conformidade	Em conformidade	N/A	N/A	N/A	N/A	Em conformidade
Aparência - Essencialmente livre de partículas visíveis	Em conformidade	Em conformidade	Em conformidade	N/A	N/A	N/A	N/A	Em conformidade
pH	5,0 - 6,0	5,6	5,5	N/A	N/A	N/A	N/A	5,4
Concentração de proteína (RI)	90 - 110 mg/ml	100	100	N/A	N/A	N/A	N/A	99
Bloqueio DELFIA - Ligação em relação ao padrão de referência	75 - 133%	101	100	N/A	N/A	N/A	N/A	96
icIEF - Isoformas pl mais baixas (%)	Resultados do Relatório	43,3	39,8	N/A	N/A	N/A	N/A	43,9
icIEF - Isoforma pl principal (%)	Resultados do Relatório	53,3	55,1	N/A	N/A	N/A	N/A	48,3
Cromatografia de exclusão por tamanho (SEC) - Agregados	NMT 5,0%	1,3	1,4	N/A	N/A	N/A	N/A	2,0
CE-SDS não redutor - Maior impureza única (%)	Resultados do Relatório	1,4	1,7	N/A	N/A	N/A	N/A	1,8
CE-SDS não redutor - Pureza total	NLT 90,0%	96,5	95,2	N/A	N/A	N/A	N/A	95,6
Endotoxina (USP, EP) - Endotoxina	NMT 130,00 EU/ml	< 8,00	N/V	N/V	N/A	N/A	N/A	< 8,00
Partículas - NLT 10um	Contagens/recipiente NMT 6000	165	N/V	N/V	N/A	N/A	N/A	76,59
Particulados - NLT 25um	Contagens/recipiente NMT 600	4	N/V	N/V	N/A	N/A	N/A	1,07
Integridade de fechamento de recipiente - Integridade do selo	Em conformidade	Em conformidade <sup>1</sup>	N/V	N/V	N/A	N/A	N/A	Em conformidade

**Tabela 13:** Dados de estabilidade para produto de fármaco STX-100 a 50 mg/mL em Seringa de 1 mL, armazenada de 2-8°C

Descrição:	PS TAB-14-10-033 (Ciclo 2 produto de fármaco) dados de estabilidade								
Lote Nº:	TR-PPD-509928	Protocolo de Estabilidade:		PS TAB-14-10-033		Data Estágio Estudo:		22 de outubro de 2014	
Data Fabricação:	16 de outubro de 2014	Protocolo myCIMS:		TR-PPD-010008		Concentração:		50 mg/mL	
Local Fabricação:	PPD Cambridge	Condições de Armazenamento:		2-8°C		Recipiente de Amostra:		PES 1 mL (0,8 mL ench.)	
		Ponto no Tempo (Meses) e TD Labware LIMS # apresentação							
		38228	38229	38230	38231	38232	38233	PPD-16-6953	PPD-16-6954
Método Teste	Critério Aceitação <sup>1</sup>	0	1	3	6	9	12	18	24
Aparência	Cor: Relatar Resultados	BY6-BY5	BY6-BY5	BY6-BY5	BY6-BY5	BY5-BY4	BY5-BY4	N/A	BY7-BY6
	Clareza: Relatar Resultados	18-30	18-30	18-30	18-30	18-30	18-30	N/A	6-18
	Essencialmente sem Partículas Visíveis	N/O	N/O	N/O	N/O	N/O	N/O	N/A	N/O
pH	5,0-6,0	5,5	5,5	5,5	5,6	5,5	5,5	N/A	5,5

Osmolalidade	Relatar Resultados	332	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT
Conc. Proteína	45-55 mg/mL	52	52	51	52	52	51	N/A	52
SEC	≤ 5,0% Agregados	1,0	1,1	1,2	1,3	1,4	1,4	N/A	1,7
icIEF	Relatar % Isoformas pl Inferiores (xx,x%)	43,5	42,8	42,3	42,4	43,8	41,0	N/A	43,0
	Relatar % Pico principal (xx,x%)	49,8	50,5	51,2	49,6	48,8	53,1	N/A	50,4
	Relatar % Isoformas pl Superiores (xx,x%)	6,8	6,7	6,5	8,0	7,4	5,8	N/A	6,7
CE-SDS Não Produtora	≥ 90,0 de pureza resultados	97,1	97,1	96,6	96,6	96,5	96,4	N/A	96,3
	Relatar Impureza Simples Superior (x,x%)	1,7	1,7	1,7	1,7	1,6	1,8	N/A	1,7
CE-SDS Redutor	Relatar % pureza resultados	97,1	97,3	96,5	96,7	96,8	96,0	N/A	96,6
	Relatar Impureza Simples Superior (x,x%)	1,4	1,3	1,3	1,4	1,4	1,4	N/A	1,5
Potência	75 a 133 % de ligação relacionada a Padrão de Referência	98	N/A <sup>2</sup>	102	98	95	100	N/A	106
P580	Relatar %	0,05	NT	NT	NT	N/T	0,057	N/T	0,05
Oxidação	%H2-Ox	5,3	NT	5,8	6,8	N/T	N/A <sup>2</sup>	N/A	7
	%H1,5-Ox	4,9	NT	5,6	7,0	N/T	N/A <sup>2</sup>	N/A	6,6
	%H3,0-Ox	2,9	NT	3,6	4,1	N/T	N/A <sup>2</sup>	N/A	2,5
Partículas Subvisíveis (HIAC)	Partículas ≥ 10µm: Relatar Resultados, Partículas/mL	77	98	122	41	30	47	N/A	42
	Partículas ≥ 25µm: Relatar Resultados, Partículas/mL	37	0	5	0	0	0	N/A	6
Partículas Subvisíveis (MFI)	Partículas ≥ 10µm: Relatar Resultados, Partículas/mL <sup>3</sup>	197	NT	21	400	150	235	N/A	43
	Partículas ≥ 25µm: Relatar Resultados, Partículas/mL <sup>3</sup>	13	NT	7	59	11	14	N/A	1
Partículas Subvisíveis (HIAC) <sup>4</sup>	Partículas ≥ 10µm: ≤ 6.000 Partículas/Recipiente	62	78	98	33	24	38	N/A	34
	Partículas ≥ 25µm: ≤ 600 Partículas/Recipiente	30	0	4	0	0	0	N/A	6
Partículas Subvisíveis (MFI) <sup>4</sup>	Partículas ≥ 10µm: ≤ 6.000 Partículas/Recipiente	158	NT	17	320	120	186	N/A	34
	Partículas ≥ 25µm: ≤ 600 Partículas/Recipiente	10	NT	8	47	9	1	N/A	1

<sup>1</sup> Com base em especificação de plataforma e dados experimentais. Estes Critérios de Aceitação não foram aprovados e somente podem ser usados para Informação.

<sup>2</sup> Dados não estão disponíveis devido a má manipulação da amostra. <sup>3</sup> T0 (dados do mês 0 são de ELE EXP 8 de janeiro de 2015 -0065; <sup>3</sup> Calculado usando partículas/mL x volume de enchimento (0,8 mL);

N/O: Nenhum particulado observado; NT: Não testado de acordo com o protocolo; N/A: Estudo não foi realizado devido a mudanças de programa.

## Outras Modalidades

Embora a invenção tenha sido descrita em conjunção com a sua descrição detalhada, a descrição anterior pretende ilustrar e não limitar o âmbito da invenção, que é definido pelo escopo das reivindicações anexas. Outros aspectos, vantagens e modificações estão dentro do escopo das reivindicações.

## REIVINDICAÇÕES

1. Composição farmacêutica, caracterizada pelo fato de que compreende um anticorpo anti- $\alpha\beta 6$  ou fragmento de ligação ao  $\alpha\beta 6$  do mesmo e cloridrato de arginina (Arg.HCl), em que o anticorpo anti- $\alpha\beta 6$  ou fragmento de ligação ao  $\alpha\beta 6$  do mesmo compreende um domínio variável de cadeia pesada (VH) de imunoglobulina e um domínio variável de cadeia leve (VL) de imunoglobulina, o VH e VL, respectivamente, compreendendo:

(a) regiões determinantes da complementaridade de VH (CDRs), em que

VH-CDR1 consiste na sequência de aminoácidos apresentada na SEQ ID NO:1;

VH-CDR2 consiste na sequência de aminoácidos apresentada na SEQ ID NO:2; e

VH-CDR3 consiste na sequência de aminoácidos apresentada na SEQ ID NO:3; e

(b) CDRs de VL, em que

VL-CDR1 consiste na sequência de aminoácidos apresentada na SEQ ID NO:4;

VL-CDR2 consiste na sequência de aminoácidos apresentada na SEQ ID NO:5; e

VL-CDR3 consiste na sequência de aminoácidos apresentada na SEQ ID NO:6, e

em que a composição tem um pH de 5,2 a 5,7.

2. Composição farmacêutica, de acordo com a reivindicação 1, caracterizada pelo fato de que a composição compreende o anticorpo anti- $\alpha\beta 6$  ou fragmento de ligação ao  $\alpha\beta 6$  do mesmo a uma concentração de 50 mg/ml a 200 mg/ml.

3. Composição farmacêutica, de acordo com a reivindicação 1, caracterizada pelo fato de que a composição compreende o anticorpo



anti- $\alpha\beta6$  ou fragmento de ligação ao  $\alpha\beta6$  do mesmo a uma concentração de 100 mg/ml a 175 mg/ml.

4. Composição farmacêutica, de acordo com a reivindicação 1, caracterizada pelo fato de que a composição compreende o anticorpo anti- $\alpha\beta6$  ou fragmento de ligação ao  $\alpha\beta6$  do mesmo a uma concentração de 150 mg/ml.

5. Composição farmacêutica, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 4, caracterizada pelo fato de que a composição compreende Arg.HCl a uma concentração de 50 mM a 250 mM.

6. Composição farmacêutica, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 4, caracterizada pelo fato de que a composição compreende Arg.HCl a uma concentração de 100 mM a 200 mM.

7. Composição farmacêutica, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 4, caracterizada pelo fato de que a composição compreende Arg.HCl a uma concentração de 150 mM.

8. Composição farmacêutica, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 7, caracterizada pelo fato de que a composição compreende metionina.

9. Composição farmacêutica, de acordo com a reivindicação 8, caracterizada pelo fato de que a composição compreende metionina a uma concentração de 0,5 mM a 30 mM.

10. Composição farmacêutica, de acordo com a reivindicação 8, caracterizada pelo fato de que a composição compreende metionina a uma concentração de 1 mM a 10 mM.

11. Composição farmacêutica, de acordo com a reivindicação 8, caracterizada pelo fato de que a composição compreende metionina a uma concentração de 5 mM.

12. Composição farmacêutica, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 11, caracterizada pelo fato de que a composição compreende Polissorbato-80 (PS80).

13. Composição farmacêutica, de acordo com a reivindicação 12, caracterizada pelo fato de que a composição compreende PS80 a uma concentração de 0,01% a 0,1%.

14. Composição farmacêutica, de acordo com a reivindicação 12, caracterizada pelo fato de que a composição compreende PS80 a uma concentração de 0,03% a 0,08%.

15. Composição farmacêutica, de acordo com a reivindicação 12, caracterizada pelo fato de que a composição compreende PS80 a uma concentração de 0,05%.

16. Composição farmacêutica, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 15, caracterizada pelo fato de que a composição compreende citrato de sódio e ácido cítrico.

17. Composição farmacêutica, de acordo com a reivindicação 16, caracterizada pelo fato de que a composição compreende citrato de sódio e ácido cítrico a uma concentração de 5 mM a 30 mM.

18. Composição farmacêutica, de acordo com a reivindicação 16, caracterizada pelo fato de que a composição compreende citrato de sódio e ácido cítrico a uma concentração de 15 mM a 25 mM.

19. Composição farmacêutica, de acordo com a reivindicação 16, caracterizada pelo fato de que a composição compreende citrato de sódio e ácido cítrico a uma concentração de 20 mM.

20. Composição farmacêutica, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 19, caracterizada pelo fato de que a composição tem um pH de 5,3 a 5,6.

21. Composição farmacêutica, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 19, caracterizada pelo fato de que a composição tem um pH de 5,5.

22. Composição farmacêutica, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 21, caracterizada pelo fato de que a composição compreende um antioxidante contendo tiol.

23. Composição farmacêutica, de acordo com a reivindicação 22, caracterizada pelo fato de que o antioxidante contendo tiol é selecionado do grupo que consiste em GSH, GSSG, a combinação de GSH e GSSG, cistina, cisteína e a combinação de cisteína e cistina.

24. Composição farmacêutica, de acordo com a reivindicação 22, caracterizada pelo fato de que o antioxidante contendo tiol é GSH.

25. Composição farmacêutica, de acordo com a reivindicação 22, caracterizada pelo fato de que o antioxidante contendo tiol é GSSG.

26. Composição farmacêutica, de acordo com a reivindicação 22, caracterizada pelo fato de que o antioxidante contendo tiol é a combinação de GSH e GSSG.

27. Composição farmacêutica, de acordo com qualquer uma das reivindicações 22 a 26, caracterizada pelo fato de que o antioxidante contendo tiol está em uma concentração de 0,02 mM a 2 mM.

28. Composição farmacêutica, de acordo com qualquer uma das reivindicações 22 a 26, caracterizada pelo fato de que o antioxidante contendo tiol está em uma concentração de 0,2 mM.

29. Composição farmacêutica, de acordo com qualquer uma das reivindicações 22 a 26, caracterizada pelo fato de que o antioxidante contendo tiol está em uma concentração de 0,4 mM.

30. Composição farmacêutica, de acordo com qualquer uma das reivindicações 22 a 26, caracterizada pelo fato de que o antioxidante contendo tiol está em uma concentração de 1 mM.

31. Composição farmacêutica, de acordo com a reivindicação 26, caracterizada pelo fato de que o GSH está em uma concentração de 0,4 mM e o GSSG está em uma concentração de 0,2 mM.

32. Composição farmacêutica, de acordo com a reivindicação 1, caracterizada pelo fato de que compreende:

o anticorpo anti- $\alpha\beta 6$  ou fragmento de ligação ao  $\alpha\beta 6$  do mesmo a uma concentração de 125 mg/ml a 175 mg/ml;

Arg.HCl a uma concentração de 125 mM a 175 mM;

metionina a uma concentração de 1 mM a 10 mM;

citrato de sódio e ácido cítrico a uma concentração de 15 mM a 25 mM; e

PS80 a uma concentração de 0,03% a 0,08%,

em que a composição tem um pH de 5,3 a 5,7.

33. Composição farmacêutica, de acordo com a reivindicação 1, caracterizada pelo fato de que compreende:

o anticorpo anti- $\alpha\beta 6$  ou fragmento de ligação ao  $\alpha\beta 6$  do mesmo a uma concentração de 125 mg/ml a 175 mg/ml;

Arg.HCl a uma concentração de 125 mM a 175 mM;

metionina a uma concentração de 1 mM a 10 mM;

citrato de sódio e ácido cítrico a uma concentração de 15 mM a 25 mM;

um antioxidante contendo tiol é uma concentração de 0,02 mM a 2 mM; e

PS80 a uma concentração de 0,03% a 0,08%,

em que a composição tem um pH de 5,3 a 5,7.

34. Composição farmacêutica, de acordo com a reivindicação 1, caracterizada pelo fato de que compreende:

o anticorpo anti- $\alpha\beta 6$  ou fragmento de ligação ao  $\alpha\beta 6$  do mesmo a uma concentração de 150 mg/ml;

Arg.HCl a uma concentração de 150 mM;

metionina a uma concentração de 5 mM;

citrato de sódio e ácido cítrico a uma concentração de 20 mM; e

PS80 a uma concentração de 0,05%,

em que a composição tem um pH de 5,5.

35. Composição farmacêutica, de acordo com a reivindicação 1, caracterizada pelo fato de que compreende:

o anticorpo anti- $\alpha\beta 6$  ou fragmento de ligação ao  $\alpha\beta 6$  do mesmo a uma concentração de 150 mg/ml;

Arg.HCl a uma concentração de 150 mM;

metionina a uma concentração de 5 mM;

citrato de sódio e ácido cítrico a uma concentração de 20 mM;

um antioxidante contendo tiol selecionado do grupo que consiste em GSH a uma concentração de 0,4 mM, cisteína a uma concentração de 0,4 mM, GSSG a uma concentração de 0,2 mM, cistina a uma concentração de 0,2 mM, GSSH a uma concentração de 0,2 mM e GSSG a uma concentração de 0,4 mM, e cisteína a uma concentração de 0,4 mM e cistina a uma concentração de 0,2 mM; e

PS80 a uma concentração de 0,05%,

em que a composição tem um pH de 5,5.

36. Composição farmacêutica, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 35, caracterizada pelo fato de que:

(i) o VH consiste em uma sequência pelo menos 80% idêntica à SEQ ID NO:7 e o VL consiste em uma sequência pelo menos 80% idêntica à SEQ ID NO:8;

(ii) o VH consiste em uma sequência pelo menos 90% idêntica à SEQ ID NO:7 e o VL consiste em uma sequência pelo menos 90% idêntica à SEQ ID NO:8; ou

(iii) o VH consiste na sequência de aminoácidos apresentada na SEQ ID NO:7 e o VL consiste na sequência de aminoácidos apresentada na SEQ ID NO:8.

37. Composição farmacêutica, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 36, caracterizada pelo fato de que o anticorpo anti- $\alpha\beta 6$  compreende uma cadeia pesada de imunoglobulina e uma cadeia

leve de imunoglobulina, em que:

(i) a cadeia pesada consiste em uma sequência pelo menos 80% idêntica à SEQ ID NO:9 e a cadeia leve consiste em uma sequência pelo menos 80% idêntica à SEQ ID NO:10;

(ii) a cadeia pesada consiste em uma sequência pelo menos 90% idêntica à SEQ ID NO:9 e a cadeia leve consiste em uma sequência pelo menos 90% idêntica à SEQ ID NO:10; ou

(iii) a cadeia pesada consiste na sequência de aminoácidos apresentada na SEQ ID NO:9 e a cadeia leve consiste na sequência de aminoácidos apresentada na SEQ ID NO:10.

38. Método para tratar uma condição selecionada do grupo que consiste em fibrose, lesão pulmonar aguda e lesão renal aguda em um ser humano em necessidade do mesmo, caracterizado pelo fato de que o método compreende administrar ao ser humano a composição farmacêutica como definida em qualquer uma das reivindicações 1 a 37.

39. Método, de acordo com a reivindicação 38, caracterizado pelo fato de que a condição é fibrose.

40. Método, de acordo com a reivindicação 39, caracterizado pelo fato de que a fibrose é fibrose pulmonar.

41. Método, de acordo com a reivindicação 40, caracterizado pelo fato de que a fibrose pulmonar é fibrose pulmonar idiopática.

42. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 38 a 41, caracterizado pelo fato de que a composição farmacêutica é administrada por via subcutânea ao ser humano.

43. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 38 a 42, caracterizado pelo fato de que o anticorpo anti- $\alpha\beta 6$  ou fragmento de ligação ao  $\alpha\beta 6$  do mesmo da composição farmacêutica é administrado ao ser humano a uma dose de 40 mg uma vez por semana.

44. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 38 a 42, caracterizado pelo fato de que o anticorpo anti- $\alpha\beta 6$  ou fragmento

de ligação ao  $\alpha\beta6$  do mesmo da composição farmacêutica é administrado ao ser humano a uma dose de 48 mg uma vez por semana.

45. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 38 a 42, caracterizado pelo fato de que o anticorpo anti- $\alpha\beta6$  ou fragmento de ligação ao  $\alpha\beta6$  do mesmo da composição farmacêutica é administrado ao ser humano a uma dose de 56 mg uma vez por semana.

46. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 38 a 42, caracterizado pelo fato de que o anticorpo anti- $\alpha\beta6$  ou fragmento de ligação ao  $\alpha\beta6$  do mesmo da composição farmacêutica é administrado ao ser humano a uma dose de 64 mg uma vez por semana.

47. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 38 a 42, caracterizado pelo fato de que o anticorpo anti- $\alpha\beta6$  ou fragmento de ligação ao  $\alpha\beta6$  do mesmo da composição farmacêutica é administrado ao ser humano a uma dose de 0,5 mg/kg a 0,8 mg/kg uma vez por semana.

48. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 38 a 42, caracterizado pelo fato de que o anticorpo anti- $\alpha\beta6$  ou fragmento de ligação ao  $\alpha\beta6$  do mesmo da composição farmacêutica é administrado ao ser humano a uma dose de 0,5 mg/kg uma vez por semana.

49. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 38 a 42, caracterizado pelo fato de que o anticorpo anti- $\alpha\beta6$  ou fragmento de ligação ao  $\alpha\beta6$  do mesmo da composição farmacêutica é administrado ao ser humano a uma dose de 0,6 mg/kg uma vez por semana.

50. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 38 a 42, caracterizado pelo fato de que o anticorpo anti- $\alpha\beta6$  ou fragmento de ligação ao  $\alpha\beta6$  do mesmo da composição farmacêutica é administrado ao ser humano a uma dose de 0,7 mg/kg uma vez por

semana.

51. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 38 a 42, caracterizado pelo fato de que o anticorpo anti- $\alpha\beta 6$  ou fragmento de ligação ao  $\alpha\beta 6$  do mesmo da composição farmacêutica é administrado ao ser humano a uma dose de 0,8 mg/kg uma vez por semana.

52. Método de tratamento de uma condição selecionada do grupo que consiste em fibrose, lesão pulmonar aguda e lesão renal aguda em um ser humano em necessidade do mesmo, caracterizado pelo fato de que o método compreende a administração subcutânea ao ser humano de um anticorpo anti- $\alpha\beta 6$  ou fragmento de ligação ao  $\alpha\beta 6$  do mesmo a uma dose de 40 mg uma vez por semana, em que o anticorpo anti- $\alpha\beta 6$  ou fragmento de ligação ao  $\alpha\beta 6$  do mesmo compreende um domínio variável de cadeia pesada (VH) de imunoglobulina e um domínio variável de cadeia leve (VL) de imunoglobulina, o VH e o VL, respectivamente, compreendendo:

(a) regiões determinantes da complementaridade de VH (CDRs), em que

VH-CDR1 consiste na sequência de aminoácidos apresentada na SEQ ID NO:1;

VH-CDR2 consiste na sequência de aminoácidos apresentada na SEQ ID NO:2; e

VH-CDR3 consiste na sequência de aminoácidos apresentada na SEQ ID NO:3; e

(b) CDRs de VL, em que

VL-CDR1 consiste na sequência de aminoácidos apresentada na SEQ ID NO:4;

VL-CDR2 consiste na sequência de aminoácidos apresentada na SEQ ID NO:5; e

VL-CDR3 consiste na sequência de aminoácidos



apresentada na SEQ ID NO:6, e

53. Método de tratamento de uma condição selecionada do grupo que consiste em fibrose, lesão pulmonar aguda e lesão renal aguda em um ser humano em necessidade do mesmo, caracterizado pelo fato de que o método compreende a administração subcutânea ao ser humano de um anticorpo anti- $\alpha\beta6$  ou fragmento de ligação ao  $\alpha\beta6$  do mesmo a uma dose de 48 mg uma vez por semana, em que o anticorpo anti- $\alpha\beta6$  ou fragmento de ligação ao  $\alpha\beta6$  do mesmo compreende um domínio variável de cadeia pesada (VH) de imunoglobulina e um domínio variável de cadeia leve (VL) de imunoglobulina, o VH e o VL, respectivamente, compreendendo:

(a) regiões determinantes da complementaridade de VH (CDRs), em que

VH-CDR1 consiste na sequência de aminoácidos apresentada na SEQ ID NO:1;

VH-CDR2 consiste na sequência de aminoácidos apresentada na SEQ ID NO:2; e

VH-CDR3 consiste na sequência de aminoácidos apresentada na SEQ ID NO:3; e

(b) CDRs de VL, em que

VL-CDR1 consiste na sequência de aminoácidos apresentada na SEQ ID NO:4;

VL-CDR2 consiste na sequência de aminoácidos apresentada na SEQ ID NO:5; e

VL-CDR3 consiste na sequência de aminoácidos apresentada na SEQ ID NO:6, e

54. Método de tratamento de uma condição selecionada do grupo que consiste em fibrose, lesão pulmonar aguda e lesão renal aguda em um ser humano em necessidade do mesmo, caracterizado pelo fato de que o método compreende a administração subcutânea ao

ser humano de um anticorpo anti- $\alpha\beta 6$  ou fragmento de ligação ao  $\alpha\beta 6$  do mesmo a uma dose de 56 mg uma vez por semana, em que o anticorpo anti- $\alpha\beta 6$  ou fragmento de ligação ao  $\alpha\beta 6$  do mesmo compreende um domínio variável de cadeia pesada (VH) de imunoglobulina e um domínio variável de cadeia leve (VL) de imunoglobulina, o VH e o VL, respectivamente, compreendendo:

(a) regiões determinantes da complementaridade de VH (CDRs), em que

VH-CDR1 consiste na sequência de aminoácidos apresentada na SEQ ID NO:1;

VH-CDR2 consiste na sequência de aminoácidos apresentada na SEQ ID NO:2; e

VH-CDR3 consiste na sequência de aminoácidos apresentada na SEQ ID NO:3; e

(b) CDRs de VL, em que

VL-CDR1 consiste na sequência de aminoácidos apresentada na SEQ ID NO:4;

VL-CDR2 consiste na sequência de aminoácidos apresentada na SEQ ID NO:5; e

VL-CDR3 consiste na sequência de aminoácidos apresentada na SEQ ID NO:6, e

55. Método de tratamento de uma condição selecionada do grupo que consiste em fibrose, lesão pulmonar aguda e lesão renal aguda em um ser humano em necessidade do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende a administração subcutânea ao ser humano de um anticorpo anti- $\alpha\beta 6$  ou fragmento de ligação ao  $\alpha\beta 6$  do mesmo a uma dose de 64 mg uma vez por semana, em que o anticorpo anti- $\alpha\beta 6$  ou fragmento de ligação ao  $\alpha\beta 6$  do mesmo compreende um domínio variável de cadeia pesada (VH) de imunoglobulina e um domínio variável de cadeia leve (VL) de imunoglobulina, o VH e o VL,

respectivamente, compreendendo:

(a) regiões determinantes da complementaridade de VH (CDRs), em que

VH-CDR1 consiste na sequência de aminoácidos apresentada na SEQ ID NO:1;

VH-CDR2 consiste na sequência de aminoácidos apresentada na SEQ ID NO:2; e

VH-CDR3 consiste na sequência de aminoácidos apresentada na SEQ ID NO:3; e

(b) CDRs de VL, em que

VL-CDR1 consiste na sequência de aminoácidos apresentada na SEQ ID NO:4;

VL-CDR2 consiste na sequência de aminoácidos apresentada na SEQ ID NO:5; e

VL-CDR3 consiste na sequência de aminoácidos apresentada na SEQ ID NO:6; e

56. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 52 a 55, caracterizado pelo fato de que ao ser humano é administrado pelo menos 4 doses do anticorpo anti- $\alpha\text{v}\beta 6$  ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo.

57. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 52 a 55, caracterizado pelo fato de que ao ser humano é administrado pelo menos 7 doses do anticorpo anti- $\alpha\text{v}\beta 6$  ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo.

58. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 52 a 55, caracterizado pelo fato de que ao ser humano é administrado pelo menos 10 doses do anticorpo anti- $\alpha\text{v}\beta 6$  ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo.

59. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 52 a 58, caracterizado pelo fato de que:

(i) o VH consiste em uma sequência pelo menos 80% idêntica à SEQ ID NO:7 e o VL consiste em uma sequência pelo menos 80% idêntica à SEQ ID NO:8;

(ii) o VH consiste em uma sequência pelo menos 90% idêntica à SEQ ID NO:7 e o VL consiste em uma sequência pelo menos 90% idêntica à SEQ ID NO:8; ou

(iii) o VH consiste na sequência de aminoácidos apresentada na SEQ ID NO:7 e o VL consiste na sequência de aminoácidos apresentada na SEQ ID NO:8.

60. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 52 a 59, caracterizado pelo fato de que o anticorpo anti- $\alpha\text{v}\beta 6$  compreende uma cadeia pesada de imunoglobulina e uma cadeia leve de imunoglobulina, em que:

(i) a cadeia pesada consiste em uma sequência pelo menos 80% idêntica à SEQ ID NO:9 e a cadeia leve consiste em uma sequência pelo menos 80% idêntica à SEQ ID NO:10;

(ii) a cadeia pesada consiste em uma sequência pelo menos 90% idêntica à SEQ ID NO:9 e a cadeia leve consiste em uma sequência pelo menos 90% idêntica à SEQ ID NO:10; ou

(iii) a cadeia pesada consiste na sequência de aminoácidos apresentada na SEQ ID NO:9 e a cadeia leve consiste na sequência de aminoácidos apresentada na SEQ ID NO:10.

61. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 52 a 60, caracterizado pelo fato de que a condição é fibrose.

62. Método, de acordo com a reivindicação 61, caracterizado pelo fato de que a fibrose é fibrose pulmonar.

63. Método, de acordo com a reivindicação 62, caracterizado pelo fato de que a fibrose pulmonar é fibrose pulmonar idiopática.

64. Seringa ou bomba, caracterizada pelo fato de que compreende uma preparação estéril da composição farmacêutica como definida em

qualquer uma das reivindicações 1 a 37, adaptada para administração subcutânea do anticorpo anti- $\alpha\beta 6$  ou fragmento de ligação ao  $\alpha\beta 6$  do mesmo, a uma dose fixa de 40 mg, 48 mg, 56 mg ou 64 mg.

65. Seringa ou bomba, caracterizada pelo fato de que compreende 0,5 a 5,0 mL de uma preparação estéril da composição farmacêutica como definida em qualquer uma das reivindicações 1 a 37.

66. Seringa ou bomba, caracterizada pelo fato de que compreende uma preparação estéril de um anticorpo anti- $\alpha\beta 6$  ou fragmento de ligação ao  $\alpha\beta 6$  do mesmo, em que a seringa ou bomba é adaptada para administração subcutânea do anticorpo anti- $\alpha\beta 6$  ou fragmento de ligação ao  $\alpha\beta 6$  do mesmo a uma dose fixa de 40 mg, 48 mg, 56 mg ou 64 mg, e em que o anticorpo anti- $\alpha\beta 6$  ou o fragmento de ligação ao  $\alpha\beta 6$  do mesmo compreende um domínio variável de cadeia pesada (VH) de imunoglobulina e um domínio variável da cadeia leve (VL) de imunoglobulina, o VH e o VL, respectivamente, compreendendo:

(a) regiões determinantes da complementaridade de VH (CDRs), em que

VH-CDR1 consiste na sequência de aminoácidos apresentada na SEQ ID NO:1;

VH-CDR2 consiste na sequência de aminoácidos apresentada na SEQ ID NO:2; e

VH-CDR3 consiste na sequência de aminoácidos apresentada na SEQ ID NO:3; e

(b) CDRs de VL, em que

VL-CDR1 consiste na sequência de aminoácidos apresentada na SEQ ID NO:4;

VL-CDR2 consiste na sequência de aminoácidos apresentada na SEQ ID NO:5; e

VL-CDR3 consiste na sequência de aminoácidos apresentada na SEQ ID NO:6, e

67. Seringa ou bomba, de acordo com a reivindicação 66, caracterizada pelo fato de que:

(i) o VH consiste em uma sequência pelo menos 80% idêntica à SEQ ID NO:7 e o VL consiste em uma sequência pelo menos 80% idêntica à SEQ ID NO:8;

(ii) o VH consiste em uma sequência pelo menos 90% idêntica à SEQ ID NO:7 e o VL consiste em uma sequência pelo menos 90% idêntica à SEQ ID NO:8; ou

(iii) o VH consiste na sequência de aminoácidos apresentada na SEQ ID NO:7 e o VL consiste na sequência de aminoácidos apresentada na SEQ ID NO:8.

68. Seringa ou bomba, de acordo com a reivindicação 66 ou 67, caracterizada pelo fato de que o anticorpo anti- $\alpha\text{v}\beta 6$  compreende uma cadeia pesada de imunoglobulina e uma cadeia leve de imunoglobulina, em que:

(i) a cadeia pesada consiste em uma sequência pelo menos 80% idêntica à SEQ ID NO:9 e a cadeia leve consiste em uma sequência pelo menos 80% idêntica à SEQ ID NO:10;

(ii) a cadeia pesada consiste em uma sequência pelo menos 90% idêntica à SEQ ID NO:9 e a cadeia leve consiste em uma sequência pelo menos 90% idêntica à SEQ ID NO:10; ou

(iii) a cadeia pesada consiste na sequência de aminoácidos apresentada na SEQ ID NO:9 e a cadeia leve consiste na sequência de aminoácidos apresentada na SEQ ID NO:10.

69. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 38 a 63, caracterizado pelo fato de que o método compreende ainda administrar ao ser humano uma quantidade terapeuticamente eficaz de prifenidona ou nintedanibe.

70. Método, de acordo com a reivindicação 69, caracterizado pelo fato de que ao ser humano é administrado prifenidona da seguinte

forma:

<u>Dias de tratamento</u>	<u>Dosagem</u>
Dias 1 a 7	267 mg três vezes ao dia (801 mg/dia)
Dias 8 a 14	534 mg três vezes ao dia (1602 mg/dia)
Dias 15 em diante	801 mg três vezes ao dia (2403 mg/dia).

71. Método, de acordo com a reivindicação 69, caracterizado pelo fato de que ao ser humano é administrado nintedanibe a uma dose fixa de 150 mg duas vezes ao dia.

FIGURA 1A

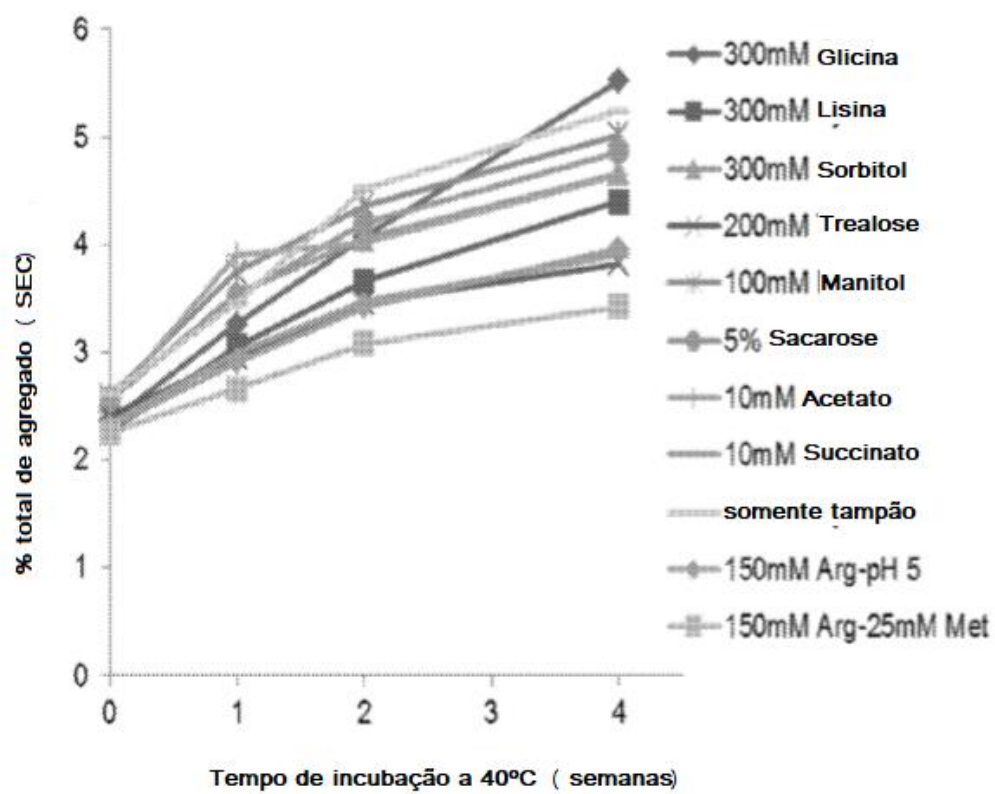




FIGURA 1B

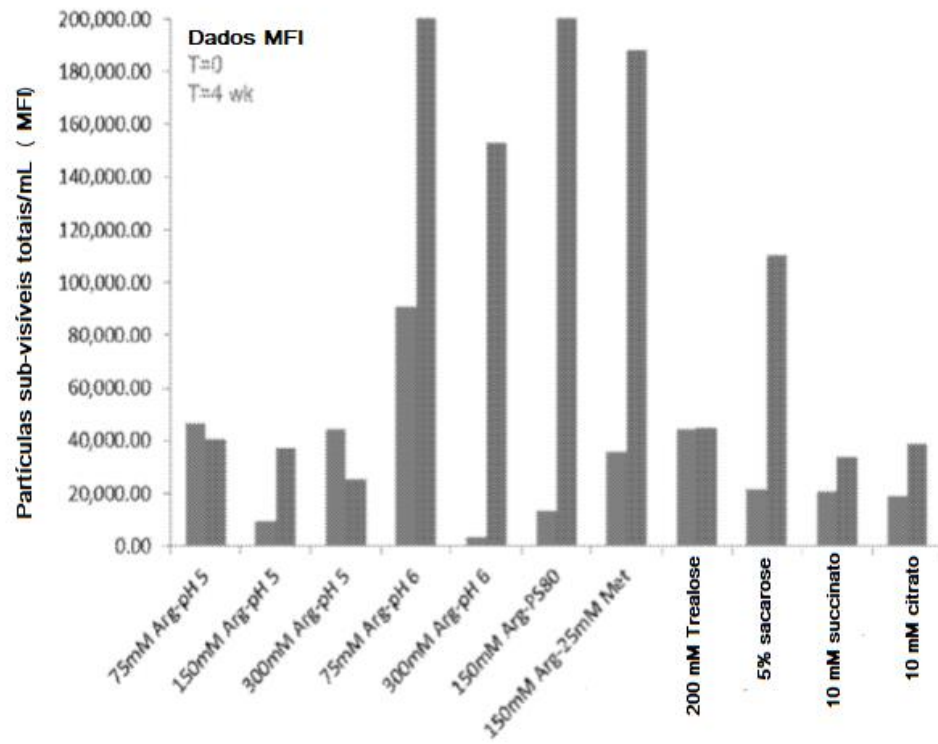


FIGURA 1C

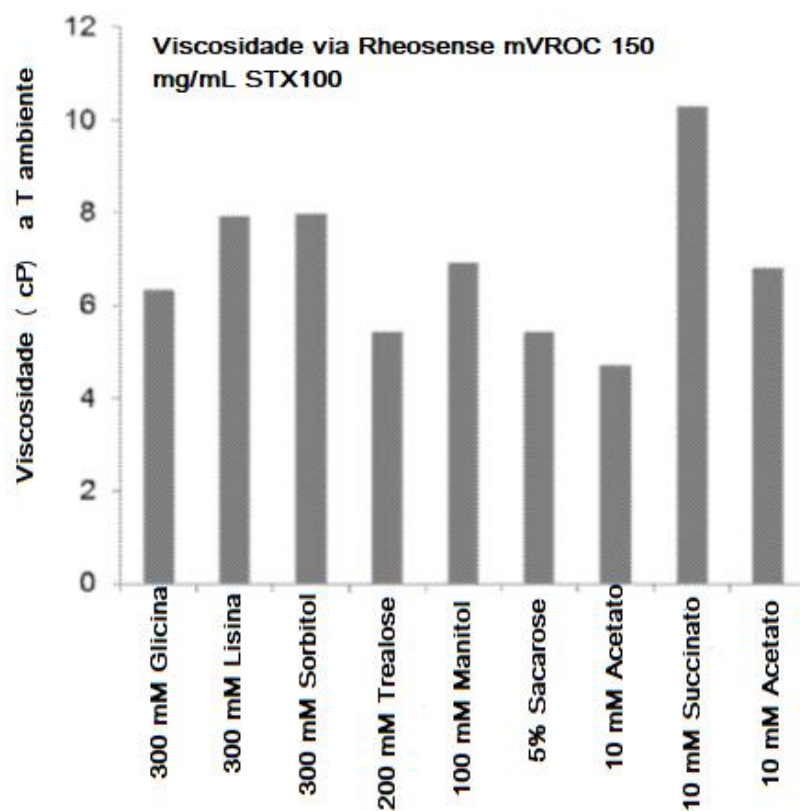


FIGURA 2

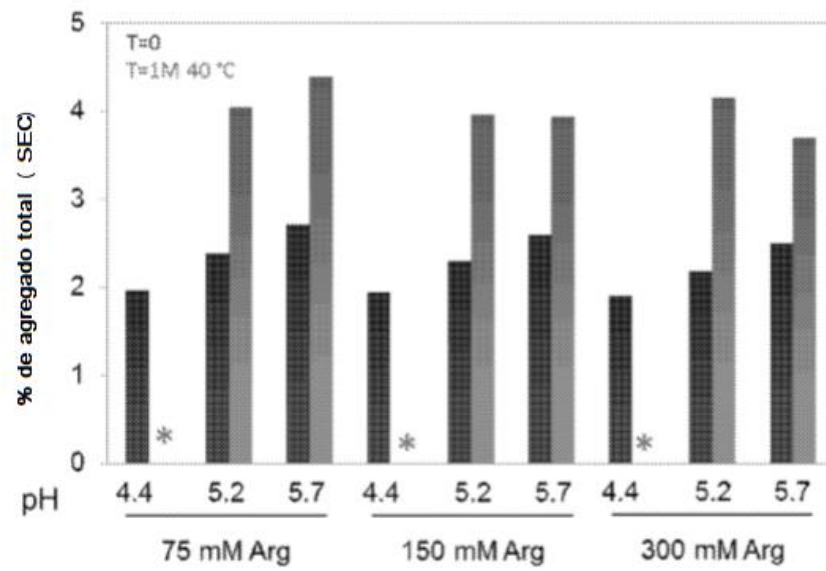


FIGURA 3

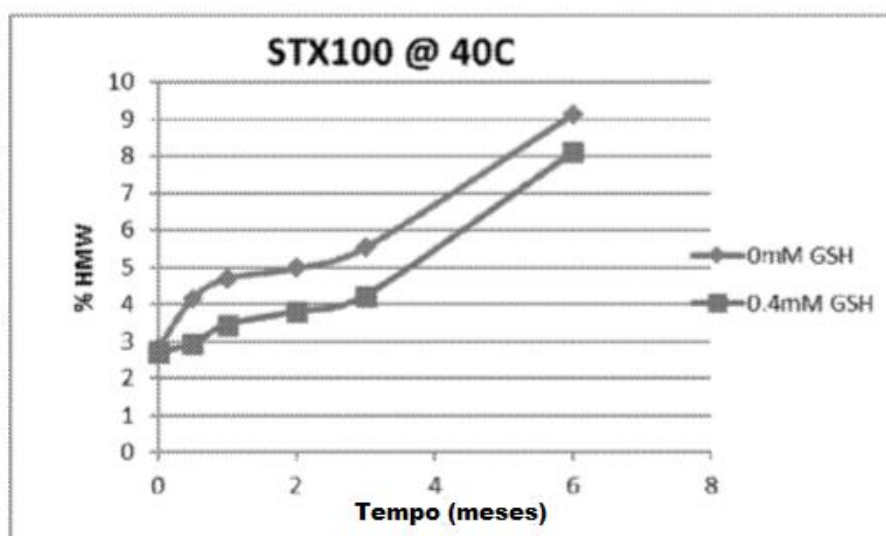
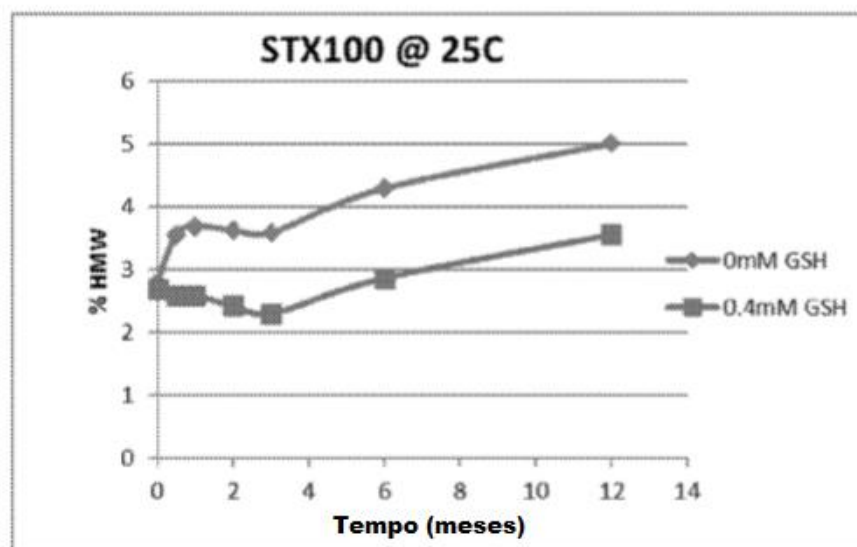


FIGURA 4

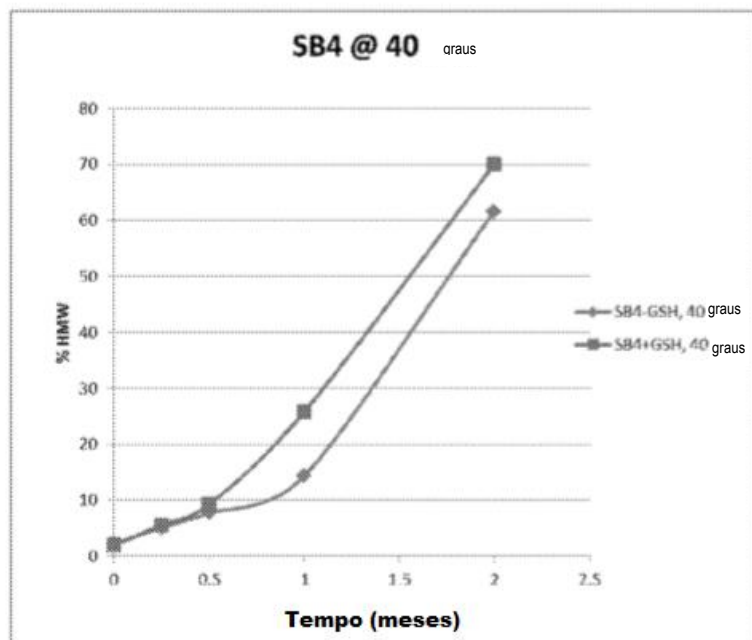
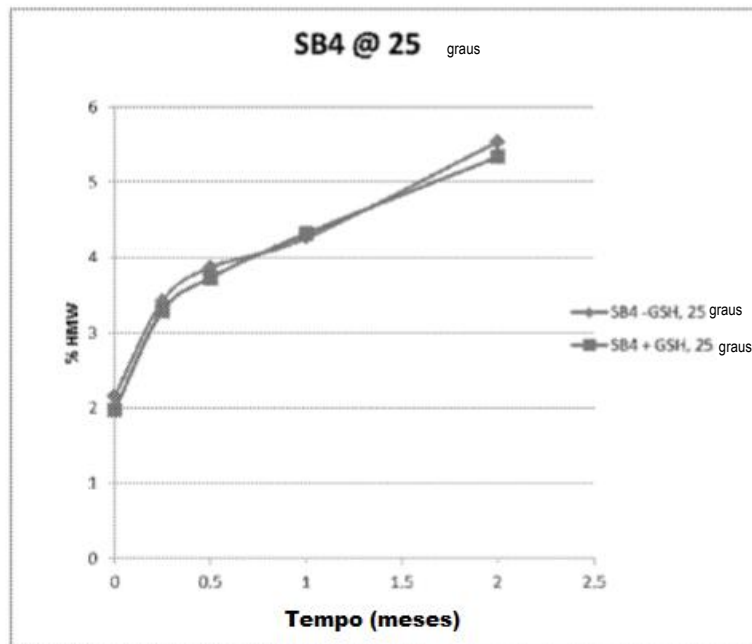
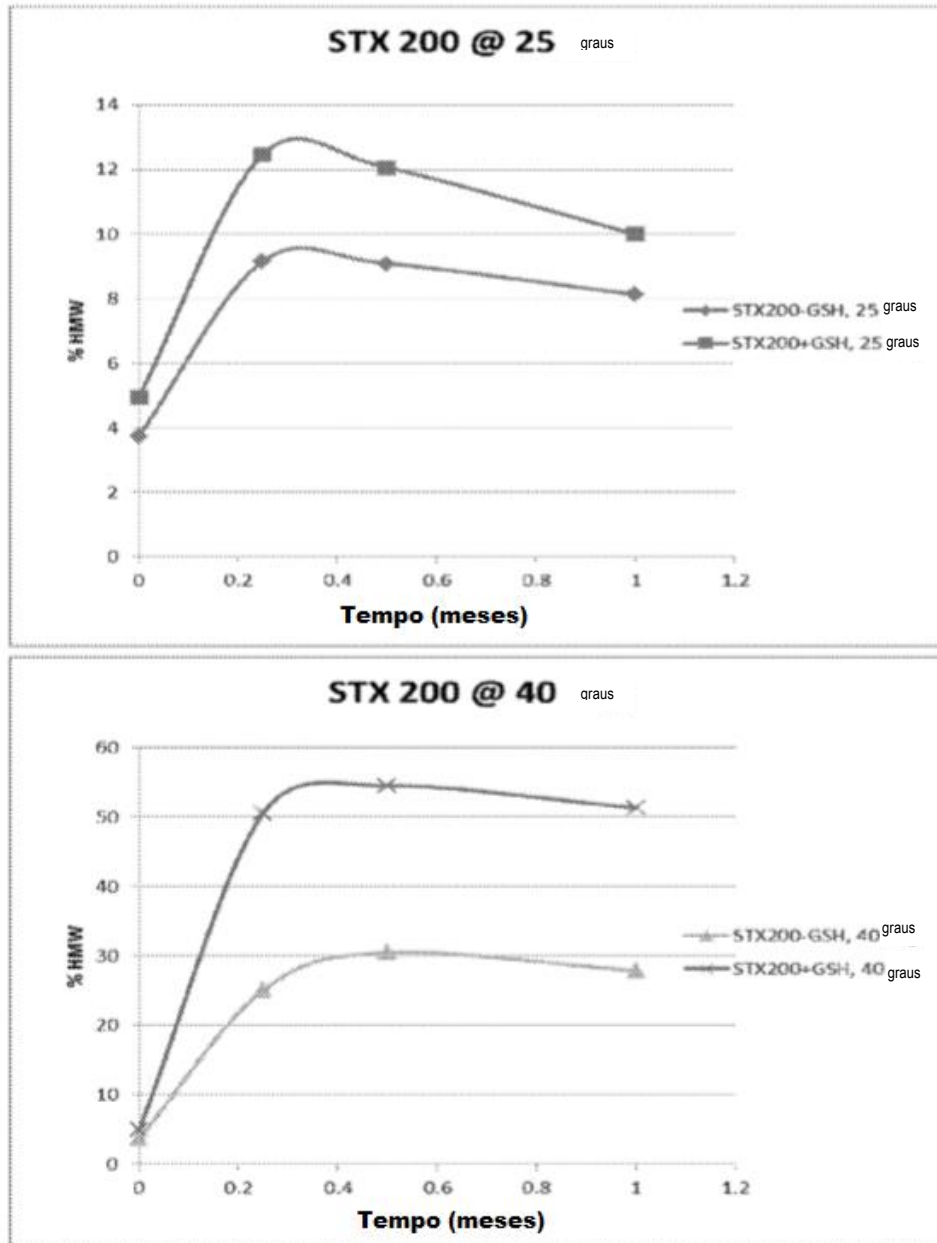


FIGURA 5



**RESUMO**

Patente de Invenção: “**COMPOSIÇÕES FARMACÊUTICAS E REGIMES DE DOSAGEM QUE CONTÊM ANTICORPOS ANTI-ALFA(V)BETA(6)**”.

A presente invenção refere-se às formulações e esquemas de dosagem de um anticorpo anti- $\alpha\text{v}\beta 6$  ou fragmento de ligação ao  $\alpha\text{v}\beta 6$  do mesmo. Essas formulações são úteis no tratamento de, por exemplo, fibrose (por exemplo, fibrose pulmonar idiopática), lesão pulmonar aguda e lesão renal aguda.

Este anexo apresenta o código de controle da listagem de sequências biológicas.

### **Código de Controle**

Campo 1



Campo 2



### **Outras Informações:**

- Nome do Arquivo: LISTAGEM DE SEQUÊNCIA DE TRADUÇÃO 30 OU 60
- Data de Geração do Código: 23/03/2020
- Hora de Geração do Código: 10:43:00
- Código de Controle:
  - Campo 1: 458914857FFD165E
  - Campo 2: 8424EFF90BD45AB4