

(19)



Евразийское  
патентное  
ведомство

(11) 038462

(13) B1

## (12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента  
**2021.08.31**

(51) Int. Cl. A61K 47/18 (2006.01)  
A61K 39/395 (2006.01)  
A61K 9/19 (2006.01)

(21) Номер заявки  
**201991447**

(22) Дата подачи заявки  
**2015.10.22**

---

### (54) СНИЖЕНИЕ ВЯЗКОСТИ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИХ СОСТАВОВ

---

(31) 62/067,637

(56) US-B1-6767892  
EP-A1-1977763  
WO-A2-2011104381

(32) 2014.10.23

(33) US

(43) 2019.11.29

(62) 201790787; 2015.10.22

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:  
**ЭМДЖЕН ИНК. (US)**

(72) Изобретатель:  
**Слоуи Кристофер Джеймс, Канапурام  
Секхар (US)**

(74) Представитель:  
**Медведев В.Н. (RU)**

(57) Предлагается способ снижения вязкости фармацевтического состава, в котором используется вспомогательное вещество, выбранного из группы, состоящей из N-ацетиларгинина, N-ацетиллизина, N-ацетилпролина и их смесей, в концентрации, снижающей вязкость в комбинации с терапевтическим белком. Дополнительно, предлагается стабильный фармацевтический состав.

B1

038462

038462  
B1

### Перекрестная ссылка на связанные заявки

По данной заявке заявлен приоритет Предварительной заявки США № 62/067637, поданной 23 октября 2014 года, которая включена в настоящий документ в полном объеме посредством ссылки.

#### Уровень техники

Фармацевтически активные белки, такие как антитела, часто вводят в жидкие растворы, в частности, для парентеральной инъекции. Для продуктов, которые должны быть введены подкожно, например при применении в составах для самостоятельного введения; составы с объемом введения более чем 1-2 мл не обеспечивают хорошей переносимости. В таких случаях белковые составы с высокой концентрацией являются желательными с точки зрения возможности применения ограниченного объема дозы. Требования высокой дозы и малого объема при таком введении означают, что концентрация терапевтического белка может достигать 100 мг/мл или более. Белковые составы с высокой концентрацией могут создавать много проблем с точки зрения технологичности и введения терапевтических белков. Одной из проблем, возникающих в некоторых белковых составах с высокой концентрацией, является повышение вязкости. Составы с высокой вязкостью трудно обрабатывать во время изготовления, в том числе на стадиях нерасфасованного состава и фасовки. Кроме того, составы с высокой вязкостью трудно набирать в шприц и вводить инъекцией, что делает введение пациенту трудным и неприятным. Необходимость в идентификации соединений, полезных с точки зрения понижения вязкости белковых составов с высокой концентрацией, разработка способов понижения вязкости таких составов и создании фармацевтических составов с пониженной вязкостью хорошо известна в фармацевтической промышленности. В настоящем изобретении предлагаются такие соединения, способы и составы.

#### Краткое описание сути изобретения

Предлагается вспомогательное вещество, выбранное из группы, состоящей из N-ацетиларгинина, N-ацетиллизина, N-ацетилгистидина, N-ацетилпролина и их смесей с выбранной концентрацией для применения с целью снижения вязкости белковых составов. В настоящем документе предлагаются способы снижения вязкости белковых составов путем сочетания высокой концентрации терапевтического белка с понижающей вязкостью концентрацией вспомогательного вещества, выбранного из группы, состоящей из N-ацетиларгинина, N-ацетиллизина, N-ацетилгистидина, N-ацетилпролина и их смесей. Кроме того, предлагается лиофилизированный порошок, содержащий терапевтический белок и вспомогательное вещество, выбранное из группы, состоящей из N-ацетиларгинина, N-ацетиллизина, N-ацетилгистидина, N-ацетилпролина и их смесей, причем вспомогательное вещество присутствует в масовой концентрации, эффективной для снижения вязкости после разведения разбавителем. Кроме того, предлагается лиофилизированный порошок, содержащий терапевтический белок, и разбавитель для разведения, который содержит вспомогательное вещество, выбранное из группы, состоящей из N-ацетиларгинина, N-ацетиллизина, N-ацетилгистидина, N-ацетилпролина и их смесей.

В настоящем документе предлагается способ снижения вязкости жидкого фармацевтического состава, содержащего терапевтический белок в концентрации не менее 70 мг/мл, причем способ включает стадию объединения терапевтического белка с понижающей вязкостью концентрацией вспомогательного вещества, выбранного из группы, состоящей из N-ацетиларгинина, N-ацетиллизина, N-ацетилгистидина, N-ацетилпролина и их смесей. В одном варианте реализации изобретения вязкость состава понижается по меньшей мере на 5%. В другом варианте реализации изобретения вязкость состава понижается по меньшей мере на 10%. В другом варианте реализации изобретения вязкость состава понижается по меньшей мере на 20%. В другом варианте реализации изобретения вязкость состава понижается по меньшей мере на 30%. В другом варианте реализации изобретения вязкость состава понижается по меньшей мере на 40%. В другом варианте реализации изобретения вязкость состава понижается по меньшей мере на 50%. В другом варианте реализации изобретения вязкость состава понижается по меньшей мере на 60%. В другом варианте реализации изобретения вязкость состава понижается по меньшей мере на 70%. В другом варианте реализации изобретения вязкость состава понижается по меньшей мере на 80%. В родственном варианте реализации изобретения предлагаются фармацевтические составы, полученные такими способами.

Дополнительно, предлагается фармацевтический состав, содержащий терапевтический белок в концентрации не менее 70 мг/мл и вспомогательное вещество, выбранное из группы, состоящей из N-ацетиларгинина, N-ацетиллизина, N-ацетилгистидина, N-ацетилпролина и их смесей. В одном из вариантов реализации изобретения концентрация вспомогательного вещества составляет от около 5 до около 700 мМ. В родственном варианте реализации изобретения концентрация вспомогательного вещества составляет от около 100 до около 400 мМ. В другом родственном варианте реализации изобретения концентрация вспомогательного вещества составляет от около 200 до около 300 мМ. Еще в одном родственном варианте реализации изобретения концентрация вспомогательного вещества составляет от около 140 до около 170 мМ. Дополнительно предлагаются такие фармацевтические составы, pH которых составляет от около 4,0 до около 8,0. В родственном варианте реализации изобретения pH составляет от около 4,0 до около 6,0. В другом родственном варианте реализации изобретения pH составляет от около 4,8 до около 5,4.

Кроме того, предлагается способ получения лиофилизированного порошка, включающий стадию

лиофилизации фармацевтического состава, описанного выше.

В настоящем документе предлагается лиофилизированный порошок, содержащий терапевтический белок и вспомогательное вещество, выбранное из группы, состоящей из N-ацетиларгинина, N-ацетиллизина, N-ацетилгистидина, N-ацетилпролина и их смесей, причем вспомогательное вещество присутствует в массовой концентрации, эффективной для снижения вязкости после разведения разбавителем. В одном варианте реализации изобретения вспомогательное вещество присутствует в концентрации от около 100 мкг на мг терапевтического белка до около 1 мг на мг терапевтического белка. В родственном варианте реализации изобретения вспомогательное вещество присутствует в концентрации от около 200 до около 500 мкг на мг терапевтического белка. В еще одном родственном варианте реализации изобретения вспомогательное вещество присутствует в концентрации от около 150 до около 250 мкг на мг терапевтического белка. Кроме того, предлагается способ разведения лиофилизированного порошка, описанного выше, причем способ включает стадию добавления стерильного водного разбавителя.

Дополнительно предлагаются терапевтические белки, которые являются антителами. Кроме того, предлагаются составы или композиции, описанные выше, в которых терапевтический белок является антителом. Дополнительно, в настоящем документе предлагается лиофилизированный порошок, описанный выше, в котором терапевтический белок является антителом.

#### **Краткое описание графических материалов**

На фиг. 1 представлена гистограмма, иллюстрирующая влияние различных вспомогательных веществ на вязкость раствора антитела.

На фиг. 2 представлена гистограмма, иллюстрирующая влияние различных вспомогательных веществ на вязкость раствора антитела.

#### **Подробное описание изобретения**

Снижение вязкости терапевтических белковых составов с высокой концентрацией представляет интерес для фармацевтической промышленности. Обнаружено, что вспомогательные вещества, N-ацетиларгинин, N-ацетиллизин, N-ацетилгистидин, N-ацетилпролин и их смеси, понижают вязкость таких составов. В изобретении предлагается вспомогательное вещество с выбранной концентрацией для применения с целью понижения вязкости белковых составов. В настоящем документе предлагаются способы снижения вязкости белковых составов путем объединения терапевтического белка с вспомогательным веществом, выбранным из группы, состоящей из N-ацетиларгинина, N-ацетиллизина, N-ацетилгистидина, N-ацетилпролина и их смесей, в концентрации, снижающей вязкость. Дополнительно, предлагается лиофилизированный порошок, содержащий терапевтический белок и вспомогательное вещество, выбранное из группы, состоящей из N-ацетиларгинина, N-ацетиллизина, N-ацетилгистидина, N-ацетилпролина и их смесей, причем вспомогательное вещество присутствует в массовой концентрации, эффективной для снижения вязкости при разведении разбавителем.

Если контекст не требует иного, термины в единственном числе будут включать множественное число и термины во множественном числе будут включать единственное число. В общем случае, номенклатура, применяемая в связи со способами культивирования клеток и тканей, молекулярной биологии, иммунологией, микробиологией, генетикой и химией белков и нуклеиновых кислот и гибридизацией, описанными в настоящем документе, хорошо известна и обычно применяется в уровне техники. Если не указано иное, способы и методики согласно настоящему изобретению в целом выполняют в соответствии с обычными способами, известными из уровня техники, как описано в различных общих и более конкретных источниках, которые приведены в качестве ссылок и обсуждаются в тексте настоящего документа. См., например, Sambrook et al., Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 3rd ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y. (2001) и Ausubel et al., Current Protocols in Molecular Biology, Greene Publishing Associates (1992), и Harlow and Lane Antibodies: A Laboratory Manual Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y. (1990). Ферментные реакции и способы очистки осуществляют в соответствии с инструкциями производителей, как это обычно делается в уровне техники, или так, как описано в настоящем документе. Терминология, применяемая в связи с лабораторными методиками и способами аналитической химии, синтетической органической химии, медицинской и фармацевтической химии, описанными в настоящем документе, хорошо известна и широко применяется в уровне техники. Стандартные методики могут быть применены для химического синтеза, химического анализа, приготовления фармацевтического состава, составления и введения, и для лечения пациентов.

Все патенты и другие идентифицированные публикации включены в настоящий документ в полном объеме посредством ссылки с целью описания и раскрытия, например, описанных в таких публикациях методологий, которые могут быть применены в связи с описанными в настоящем документе.

Цвиттер-ионы характеризуются как несущие отдельные положительные и отрицательные заряды, которые в сумме дают нулевой заряд соединения. Большинство аминокислот являются цвиттер-ионами при физиологических значениях pH. Как описано в настоящем документе, было обнаружено, что фармацевтические составы, содержащие цвиттер-ионы, в частности N-ацетиларгинин, N-ацетиллизин, N-ацетилгистидин, N-ацетилпролин и их смеси, как правило, обладают более низкой вязкостью, чем составы, содержащие полиолы, наряду с более высокой или сравнимой стабильностью.

N-ацетиларгинин, N-ацетиллизин, N-ацетилгистидин и N-ацетилпролин представляют собой моди-

фицированные варианты природных аминокислот. N-ацетиларгинин, N-ацетиллизин, N-ацетилгистидин и N-ацетилпролин включают как d-, так и l-формы аминокислот, такие как N-ацетил-l-аргинин, N-ацетил-d-аргинин, N-ацетил-l-лизин, N-ацетил-d-лизин, N-ацетил-l-гистидин, N-ацетил-d-гистидин, N-ацетил-l-пролин, N-ацетил-d-пролин.

Термины "полипептид" и "белок" применяются в настоящем документе взаимозаменяющими. Примеры полипептидов, предусмотренных для применения в стабильных фармацевтических составах по настоящему изобретению, включают антитела, пептидные антитела, иммуноглобулин-подобные белки, не являющиеся антителами белки и не-иммуноглобулин-подобные белки. Для введения в составы по настоящему изобретению предусматриваются аналоги природных белков, включая полипептиды с модифицированным гликозилированием, полипептиды без гликозилирования (негликозилированные). В настоящем документе "аналоги" обозначают аминокислотную последовательность, которая содержит инсерции, делеции или замены по отношению к исходной последовательности, при этом, по существу, сохраняя биологическую активность исходной последовательности, определяемую с применением биологических анализов, известных специалисту из уровня техники. Составы по изобретению могут дополнительно содержать производные природных полипептидов или их аналогов, которые были химически модифицированы, например, присоединением водорастворимых полимеров (например, пегилированы), радионуклидов или других диагностических или нацеливающих или терапевтических фрагментов.

Антитела могут быть введены в составы в соответствии с настоящим изобретением. В настоящем документе термин "антитело" включает полностью собранные антитела, моноклональные антитела (в том числе человеческие, гуманизированные или химерные антитела), поликлональные антитела, полиспецифичные антитела (например, биспецифичные антитела), макситела, BiTe, переориентирующиеся антитела с двойной аффинностью (ПАДА) и фрагменты антител, которые могут связываться с антигеном (например, Fab', F' (ab)<sub>2</sub>, Fv, одноцепочечные антитела, диатела), содержащие гипервариабельные участки (CDR) вышеописанного, при условии, что они проявляют желательную биологическую активность.

Пептидные антитела, молекулы, содержащие домен Fc антитела, присоединенный по меньшей мере к одному антигенсвязывающему пептиду, в общем, описаны в Публикации РСТ WO 00/24782. Иммуноглобулин-подобные белки, члены суперсемейства иммуноглобулинов, содержат один или более иммуноглобулин-подобных доменов, которые сворачиваются в конструкции, аналогичные областям гипервариабельного участка антитела.

Белки, включая те из них, которые связываются с одним или более из следующего, могут быть пригодными для составов и способов по настоящему изобретению. Это включает белки CD, в том числе, но не ограничиваясь этим, CD3, CD4, CD8, CD19, CD20, CD22, CD30, CD34; включая те, которые препятствуют связыванию с рецептором. Белки семейства рецептора HER, в том числе HER2, HER3 и HER4, и рецептора EGF. Молекулы клеточной адгезии, например, LFA-1, MoI, p150, 95, VLA-4, ICAM-1, VCAM и альфа v/бета 3 интегрин. Факторы роста, в том числе, но не ограничиваясь этим, фактор роста сосудистого эндотелия ("VEGF"), гормон роста, тиреотропный гормон, фолликулостимулирующий гормон, лютеинизирующий гормон, фактор высвобождения гормона роста, паратиреоидный гормон, мюллерова ингибирующая субстанция; фагоцитарный воспалительный белок человека (MIP-1-альфа), эритропоэтин (EPO), фактор роста нервной ткани, такой как NGF-бета; тромбоцитарный фактор роста (PDGF), факторы роста фибробластов, в том числе, например, aFGF и bFGF, эпидермальный фактор роста (EGF), трансформирующие факторы роста (TGF), в том числе, среди прочего, TGF-альфа и TGF-бета, включая TGF- $\beta$ 1, TGF- $\beta$ 2, TGF- $\beta$ 3, TGF- $\beta$ 4 или TGF- $\beta$ 5, инсулиноподобные факторы роста-I и -II (IGF-I и IGF-II), des(1-3)-IGF-I (IGF-I мозга) и остеоиндуktивные факторы. Инсулины и родственные белки, в том числе, но не ограничиваясь этим, инсулин, А-цепь инсулина, В-цепь инсулина; проинсулин, и белки, связывающиеся с инсулиноподобным фактором роста. Белки, задействованные в процессах коагуляции и связанные с коагуляцией, такие как, среди прочего, фактор VIII, тканевой фактор, фактор фон Виллебрандта, белок C, альфа-1-антитрипсин, активаторы плазминогена, такие как урокиназа и тканевой активатор плазминогена ("t-PA"), бомбезин, тромбин и тромбопоэтин; (vii) другие белки крови и сыворотки, в том числе, но не ограничиваясь этим, альбумин, IgE и антигены группы крови. Колониестимулирующие факторы и их рецепторы, в том числе, среди прочего, M-CSF, GM-CSF и G-CSF и их рецепторы, такие как рецептор CSF-1 (c-fms). Рецепторы и ассоциированные с рецепторами белки, в том числе, например, рецептор flk2/flt3; рецептор ожирения (PO), рецептор ЛПНП, рецепторы гормонов роста, рецепторы тромбопоэтина ("TPO-R", "c-mpl"), рецепторы глюкагона, рецепторы интерлейкина, рецепторы интерферона, Т-клеточные рецепторы, рецепторы фактора стволовых клеток, такие как c-Kit, и другие рецепторы, перечисленные в настоящем документе. Лиганды рецепторов, в том числе, например, OX40L, лиганд рецептора OX40. Нейротрофические факторы, в том числе, но не ограничиваясь этим, костный нейротрофический фактор (BDNF) и нейротрофин-3, -4, -5 или -6 (NT-3, NT-4, NT-5 или NT-6). А-цепь релаксина; В-цепь релаксина; прорелаксин; интерфероны и рецепторы интерферона, в том числе, например, интерферон- $\alpha$ , - $\beta$  и - $\gamma$  и их рецепторы. Интерлейкины и рецепторы интерлейкина, в том числе, но не ограничиваясь этим, интерлейкины с IL-1 по IL-33 и рецепторы интерлейкинов с IL-1 по IL-33, среди прочего, такие как рецептор IL-8. Вирусные антигены, в том числе, но не ограничиваясь этим, антиген оболочки

вируса СПИДа. Липопротеины, кальцитонин, глюкагон, предсердный натрийуретический фактор; сурфактант легкого, фактор некроза опухоли-альфа и -бета, энкефалиназа, RANTES (регулируемый при активации нормальных Т-клеток, экспрессируемый и секретируемый), мышиный гонадотропин-связанный пептид, ДНКаза, ингибин и активин. Интегрин, белок А или D, ревматоидные факторы; иммунотоксины, костный морфогенетический белок (BMP), супероксиддисмутаза, поверхностные мембранные белки, комплементзависимый DAF-фактор (DAF), оболочка вируса СПИДа, транспортные белки, хоминг-рецепторы, адрессины, регуляторные белки, иммуноадгезины, антитела. Миостатины, белки TALL, в том числе TALL-I, амилоидные белки, в том числе, но не ограничиваясь этим, бета-амилоидные белки, тимусные стромальные лимфопоэтины ("ТСЛП"), лиганд рецепторного активатора ядерного каппа-В (RANK) ("лиганд остеопротегерина (OPGL)"), c-kit, рецепторы TNF, в том числе receptor TNF типа 1, TRAIL-R2, ангипоэтины и биологически активные фрагменты или аналоги или варианты любого из вышеуказанного.

Типичные белки и антитела включают Activase® (альтеплаза); алироцумаб (анти-PCSK9 моноклональное антитело, обозначенное как H1H316P, см. патент США № 8062640); Aranesp® (дарбопоэтин-альфа), EpoGen® (эпоэтин альфа или эритропоэтин); Avonex® (интерферон ( $\beta$ - I а); Bevaxar® (тозитумомаб); Betaseron® (интерферон- $\beta$ ); бокоцизумаб (анти-PCSK9 моноклональное антитело, обозначенное как L1L3, см. патент США № 8080243); Campath® (алемтузумаб); Dupero® (эпоэтин дельта); Velcade® бортезомиб); MLN0002 (анти- $\alpha$ 4 $\beta$ 7 mAb); MLN1202 (рецепторное mAb против CCR2 хемокина); Enbrel® (этанерспект); Eprex® (эпоэтин альфа); Erbitux® (цетуксимаб); эволокумаб (анти-PCSK9 моноклональное антитело, обозначенное как 21B12, см. патент США № 8030467); Genotropin® (соматропин); Herceptin® (трастузумаб); Humatrop® (соматропин [полученный из рДНК] для инъекций); Humira® (адалимумаб); Infergen® (интерферон Alfacon-1); Natrecor® (незиритид); Kineret® (анакинра), Leukine® (саргамостим); LymphoCide® (эпратузумаб); Benlysta™ (белимумаб); Metalyse® (тенектоплаза); Mircera® (метоксиполиэтиленгликоль-эпоэтин бета); Mylotarg® (гемтузумаб озогамицин); Raptiva® (эфализумаб); Cimzia® (сертолизумаб пегол); Soliris™ (экгулизумаб); пекселизумаб (анти-C5 комплемент); MEDI-524 (Numax®); Lucentis® (ранибизумаб); эдреколомаб (Panorex®); Trabio® (лерделимумаб); TheraCim hR3 (нимотузумаб); Omnitarg (пертузумаб 2C4); Osidem® (IDM-I); OvaRex® (B43.13); Nuvion® (визилизумаб); кантузумаб мертанзин (huC242-DMI); NeoRecormon® (эпоэтин бета); Neumega® (опрельвекин); Neulasta® (пегилированный филграстим, пегилированный G-CSF, пегилированный hu-Met-G-CSF), Neuropogen® (филграстим); Orthoclone OKT3® (муромонаб-CD3), Procrit® (эпоэтин альфа); Remicade® (инфликсимаб), Reopro® (абциксимаб), Actemra® (mAb против рецептора IL6), Avastin® (бевацизумаб), HuMax-CD4 (занолимумаб), Rituxan® (ритуксимаб); Tarceva® (эрлотиниб); Roferon-A® (интерферон альфа-2a); Simulect® (базиликсимаб); Stelara™ (устекинумаб); Prexige® (люмиракоксиб); Synagis® (паливизумаб); 146B7-CHO (анти-IL15 антитело, см. патент США № 7153507), Tysabri® (натализумаб); Valortim® (MDX-1303, защитное mAb против антигена B. anthracis); ABthrax™; Vectibix® (панитумумаб); Xolair® (омализумаб), ETI211 (анти-MRSA mAb), IL-1 Trap (часть Fc IgG1 человека и внеклеточные домены обоих компонентов рецептора IL-1 (рецептор типа I и аксессорный белок рецептора), ловушка VEGF (Ig домены VEGFR1, слитые с Fc IgG1), Zenapax® (даклизумаб); Zenapax® (даклизумаб), Zevalin® (ибритумомаб тиукседин), Zetia (эзетимиб), Atacicept (TACI-Ig), анти- $\alpha$ 4 $\beta$ 7 mAb (ведолизумаб); галиксимаб (анти-CD80 моноклональное антитело), анти-CD23 mAb (люмиликсимаб); BR2-Fc (химерный белок huBR3/huFc, растворимый антагонист фактора, активирующего В-клетки (BAFF)); Simponi™ (голимумаб); мапатумумаб (mAb против рецептора-1 TRAIL человека); окрелизумаб (mAb против CD20 человека); HuMax-EGFR (залутумумаб); M200 (волосиксимаб, mAb против интегрина  $\alpha$ 5 $\beta$ 1); MDX-010 (ипилимумаб, анти-CTLA-4 mAb и VEGFR-1 (IMC-18F1); анти-BR3 mAb; mAb против C. difficile токсина A и токсина B C MDX-066 (CDA-I) и MDX-1388); анти-CD22 конъюгаты dsFv-PE38 (CAT-3888 и CAT-8015); анти-CD25 mAb (HuMax-TAC); антитела против ТСЛП (см. патент США № 7982016, патент США № 8232372 и Публикацию заявки США 20090186022); антитело против рецептора ТСЛП (см. патент США № 8101182); анти-ТСЛП антитело, обозначенное как A5 (см. патент США № 7982016); (см. анти-CD3 mAb (NI-0401); адекатумумаб (MT201, анти-EpCAM-CD326 mAb); MDX-060, SGN-30, SGN-35 (анти-CD30 mAb); MDX-1333 (анти-IFN $\alpha$ R); HuMax CD38 (анти-CD38 mAb); анти-CD40L mAb; анти-Cripto mAb; анти-CTGF идиопатического легочного фиброза фазы I фиброгена (FG-3019); анти-CTLA4 mAb; mAb против эотаксинла (CAT-213); анти-FGF8 mAb; mAb против ганглиозида GD2; антитела против склеростина (см. патент США № 8715663 или патент США № 7592429). Антитело против склеростина, обозначенное как Ab-5 (см. патент США № 8715663 или патент США № 7592429); mAb против ганглиозида GM2; mAb против GDF-8 человека (MYO-029); mAb против рецептора GM-CSF (CAM-3001); анти-HepC mAb (HuMax HepC); MEDI-545, MDX-1103 (анти-IFN $\alpha$  mAb); анти-IGFIR mAb; анти-IGF-IR mAb (HuMax-Inflam); анти-IL12/IL23p40 mAb (Briakinumab); анти-IL-23p19 mAb (LY2525623); анти-IL13 mAb (CAT-354); анти-IL-17 mAb (AIN457); анти-IL2Ra mAb (HuMax-TAC); mAb против рецептора IL5; mAb против рецепторов интегрина (MDX-O18, CNTO 95); mAb против IP10 язвенного колита (MDX-1100); антитело против LLY; BMS-66513; mAb против рецептора маннозы/hCG $\beta$

(MDX-1307); анти-мезотелиновый конъюгат dsFv-PE38 (CAT-5001); анти-PD1mAb (MDX-1106 (ONO-4538)); анти-PDGFR $\alpha$  антитело (IMC-3G3); анти-TGF $\beta$  mAb (GC-1008); mAb против рецептора-2 TRAIL человека (HGS-ETR2); анти-TWEAK mAb; анти-VEGFR/Flt-1 mAb; анти-ZP3 mAb (HuMax-ZP3); NVS антитело № 1; NVS антитело № 2; и последовательности, содержащие моноклональное антитело против бета-амилоида, SEQ ID NO: 8 и SEQ ID NO: 6 (см. патент США № 7906625).

Типичные концентрации белка в составе могут находиться в диапазоне от около 70 до около 300 мг/мл, от около 120 до около 270 мг/мл, от около 140 до около 255 мг/мл, от около 140 до около 240 мг/мл или от около 140 до около 220 мг/мл, или, в качестве альтернативы, от около 190 до около 210 мг/мл. Концентрация белка будет зависеть от конечного применения фармацевтического состава и может быть легко определена специалистом в данной области техники. В частности, предусматриваемые концентрации белка составляют по меньшей мере около 70, 75, 80, 85, 90, 95, 100, 105, 110, 115, 120, 125, 130, 135, 140, 145, 150, 155, 160, 165, 170, 175, 180, 185, 190, 195, 200, 205, 210, 215, 220, 225, 230, 235, 240, 245, 250, 255, 260, 265, 270, 275, 280 и 285, 290, 295 и 300 мг/мл, включая все значения между ними.

В настоящем документе термин "фармацевтический состав" обозначает стерильную композицию фармацевтически активного лекарственного средства, такого как биологически активный белок, которая является подходящей для парентерального введения (в том числе, но не ограничиваясь этим, внутривенного, внутримышечного, подкожного, аэрозольного, внутрилегочного, интраназального или интратекального) пациенту, нуждающемуся в этом, и содержит только фармацевтически приемлемые вспомогательные вещества, разбавители и другие добавки, которые рассматриваются Федеральной комиссией по лекарственным веществам или другими иностранными национальными организациями как безопасные. Фармацевтические составы включают жидкость, например, водные растворы, которые могут быть непосредственно введены, и лиофилизированные порошки, из которых можно получить растворы путем добавления разбавителя перед введением. Из термина "фармацевтический состав" конкретно исключены композиции для местного применения у пациентов, композиции для приема внутрь и композиции для парентерального питания.

"Срок годности" в настоящем документе обозначает период хранения, в течение которого активный ингредиент, такой как терапевтический белок, в фармацевтическом составе, проявляет минимальное разложение (например, разложение не более чем около 5-10%) при хранении фармацевтического состава в конкретных условиях хранения, например, 2-8°C. Способы оценки разложения варьируют в зависимости от природы белка в фармацевтическом составе. Примерные методики включают эксклюзионную хроматографию (ЭХ)-ВЭЖХ для определения, например, агрегации, обращенно-фазовую (ОФ)-ВЭЖХ для определения, например, фрагментации белка, ионообменную ВЭЖХ для обнаружения, например, изменения заряда белка, масс-спектрометрию, флуоресцентную спектроскопию, спектроскопию кругового дихроизма (КД), инфракрасную спектроскопию с Фурье-преобразованием (ФП-ИК) и рамановскую спектроскопию для обнаружения конформационных изменений белка. Все эти методы могут быть применены по отдельности или в комбинации для оценки разложения белка в фармацевтическом составе и определения срока годности указанного состава. Фармацевтические составы по настоящему изобретению предпочтительно демонстрируют увеличение показателей разложения (например, фрагментация, агрегация или развертывание структуры) не более чем на около 5-10% в течение двух лет при хранении при 2-8°C.

В настоящем документе термин "стабильные" составы биологически активных белков обозначает составы, которые проявляют менее выраженную агрегацию и/или менее выраженное снижение биологической активности, по меньшей мере на 20% меньше, в условиях хранения при 2-8°C в течение по меньшей мере 2 лет, по сравнению с контрольным образцом рецептуры, или, в качестве альтернативы, которые проявляют менее выраженную агрегацию и/или менее выраженное снижение биологической активности в условиях термического стресса, например, 25°C в течение периода от 1 недели до 12 недель; 40°C в течение периода от 1 до 12 недель; 52°C в течение 7-8 суток и т.д.

В настоящем документе термин "вязкость" обозначает сопротивление жидкости течению, которое может быть измерено в единицах сантитуаз (cП) или миллипаскаль-секунду (мПа·с), где 1 cП=1 мПа·с, при заданной скорости сдвига. Вязкость может быть измерена с помощью вискозиметра, например, Brookfield Engineering Dial Reading Viscometer, модель LVT и AR-G2, производства TA instruments. Вязкость может быть измерена с применением любых других способов и на любых других устройств, известных из уровня техники (например, абсолютная, кинематическая или динамическая вязкость), при этом необходимо понимать, что имеет значение процентное уменьшение вязкости, достигнутое путем применения вспомогательных веществ, описанных в настоящем изобретении. Независимо от способа, применяемого для определения вязкости, процентное уменьшение вязкости в составах со вспомогательным веществом против контрольных составов будет оставаться приблизительно одинаковым при заданной скорости сдвига.

В настоящем документе состав, содержащий количество вспомогательного вещества, эффективное для "снижения вязкости" (или "понижающее вязкость" количество или концентрация такого вспомогательного вещества), означает, что вязкость состава в его конечной форме для введения (в виде раствора, или при разведении предусмотренным количеством разбавителя в случае порошка) по меньшей мере на

5% ниже вязкости соответствующего контроля, такого как вода, буфер, другие известные агенты для понижения вязкости, такие как соль и т.д., и контрольных составов, например, приведенных в настоящем документе. Кроме того, могут применяться контрольные составы без вспомогательного вещества, даже если они не могут быть применены в качестве терапевтических составов, например, из-за гипотоничности.

Подобным образом, состав с "пониженной вязкостью" представляет собой состав, обладающий пониженной вязкостью по сравнению с контрольным составом.

Часто возникает необходимость вводить терапевтические белки с высокими концентрациями, что может привести к повышению вязкости раствора. Весьма желательно предложить составы с высокой концентрацией, которые не обладают повышенной вязкостью, обычно наблюдаемой при таких высоких концентрациях белка.

Составы с высокой вязкостью трудно обрабатывать во время изготовления, в том числе на стадиях нерасфасованного состава и фасовки. Кроме того, составы с высокой вязкостью трудно набирать в шприц и вводить инъекцией, что нередко требует применения игл меньшего калибра по шкале гейдж и может быть неприятным для пациента. Добавление N-ацетил-L-аргинина в растворы биологически активного белка понижает вязкость растворов с высокой концентрацией белка.

Применение вспомогательного вещества, выбранного из группы, состоящей из N-ацетиларгинина, N-ацетиллизина, N-ацетилгистидина, N-ацетилпролина и их смесей, позволяет применять в составе более высокие концентрации терапевтических белков без значительного повышения вязкости, как это обычно наблюдается в случае других вспомогательных веществ. Таким образом, в изобретении предлагается способ стабилизации или снижения вязкости белковых составов путем добавления вспомогательного вещества, выбранного из группы, состоящей из N-ацетиларгинина, N-ацетиллизина, N-ацетилгистидина, N-ацетилпролина и их смесей, в количестве, эффективном для снижения вязкости. Дополнительно, в изобретении предлагаются составы терапевтических белков, включая антитела, с пониженной вязкостью, причем составы содержат эффективные количества или концентрации вспомогательного вещества, выбранного из группы, состоящей из N-ацетиларгинина, N-ацетиллизина, N-ацетилгистидина, N-ацетилпролина и их смесей. Кроме того, рассматриваются способы скрининга одного или более составов, каждый из которых содержит различные концентрации вспомогательного вещества, описанного в настоящем документе, с целью идентификации подходящей или оптимальной концентрации, которая понижает вязкость. Кроме того, предлагаются способы получения лиофилизированного порошка из раствора составов с пониженной вязкостью по изобретению и способы разведения лиофилизированных порошков по изобретению путем добавления стерильного разбавителя. Таким образом, в настоящем изобретении предлагаются фармацевтические составы, содержащие биологически активные полипептиды и вспомогательное вещество, выбранное из группы, состоящей из N-ацетиларгинина, N-ацетиллизина, N-ацетилгистидина, N-ацетилпролина и их смесей, в концентрации снижающей вязкость. Снижение вязкости составляет по меньшей мере около 5-90%, по сравнению с контрольными составами. В одном варианте реализации изобретения снижение вязкости находится в диапазоне от около 10 до 80%. В других примерных вариантах реализации изобретения снижение вязкости составляет по меньшей мере 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80 или 85%.

Составы по изобретению необязательно могут содержать фармацевтически приемлемые соли, буферные вещества, поверхностно-активные вещества, другие вспомогательные вещества, носители, разбавители и/или другие агенты рецептуры.

Типичные фармацевтически приемлемые буферные вещества включают ацетат (например, ацетат натрия), сукцинат (например, сукцинат натрия), глутаминовую кислоту, глутамат, глюконат, гистидин, цитрат или другие буферные вещества на основе органических кислот. Примерная концентрация буфера может составлять от около 1 до 200 мМ или от около 10 до около 60 мМ, в зависимости, например, от вида буфера и необходимого осмотического давления состава (например, изотонический, гипертонический или гипотонический). Примеры pH включают от около 4,5 до около 8,0 или от около 4,8 до около 5,5 или от 4 до 6 или от 5 до 5,5 или около 5, более чем около 5, более чем около 5,5, более чем около 6 или более чем около 6,5.

Подходящие разбавители, другие вспомогательные вещества или носители и другие агенты включают, но не ограничиваясь этим, антиоксиданты, красители, вкусовые добавки и разбавители, эмульгаторы, суспенсирующие агенты, растворители, наполнители, придающие объем агенты, буферные вещества, носители, разбавители и/или фармацевтические адьюванты. Например, подходящий носитель может представлять собой физиологический раствор натрия хлорида, цитратный буферный раствор натрия хлорида или искусственную СМЖ (CSF), возможно, с добавлением других материалов, обычно применяемых в составах для парентерального введения. Другим иллюстративным примером основы является нейтральный буферизованный физиологический раствор или физиологический раствор, смешанный с сывороточным альбумином. Специалисты в данной области техники легко распознают различные буферные вещества, которые могут быть применены в составах, и лекарственные формы для применения в настоящем изобретении. Типичные буферные вещества включают, но не ограничиваясь этим, фармацевтически приемлемые слабые кислоты, слабые основания или их смеси. Типичные буферные компоненты являются-

ся водорастворимыми материалами, такими как фосфорная кислота, винные кислоты, молочная кислота, янтарная кислота, лимонная кислота, уксусная кислота, аскорбиновая кислота, аспарагиновая кислота, глутаминовая кислота или их соли. Примеры солей включают соли неорганических и органических кислот или оснований, таких как металлы или амины, в примерных концентрациях, таких как около 50-200 мМ или 100-200 мМ или около 100 мМ или около 150 мМ.

Дополнительно, могут быть введены другие вспомогательные вещества или стабилизаторы, например, сахара (например, сахароза, глюкоза, трегалоза, фруктоза, ксилоза, маннитоза, фукоза), полиолы (например, глицерин, маннит, сорбит, гликоль, инозит), аминокислоты или производные аминокислот (например, аргинин, пролин, гистидин, лизин, глицин, метионин и т.д.) или поверхностно-активные вещества (например, полисорбат, в том числе полисорбат 20 или полисорбат 80, или полоксамер, в том числе полоксамер 188, ТПГС (d-альфа-токоферил полиэтиленгликоль 1000 сукцинат). Примерные концентрации поверхностно-активного вещества могут находиться в диапазоне от около 0,001 до около 1,0% или от около 0,003 до около 0,5%. Кроме того, могут быть введены консерванты, такие как бензиловый спирт, фенол, м-крезол, хлорбутанол или бензэтония Cl, например, в концентрациях в диапазоне от около 0,1 до около 2% или от около 0,5 до около 1%.

Один или более других фармацевтически приемлемых носителей, вспомогательных веществ или стабилизаторов, таких как описаны в Remington's Pharmaceutical Sciences 21st edition, Osol, A. Ed. (2005), могут быть введены в композицию при условии, что они не оказывают отрицательного влияния на желательные характеристики состава.

Концентрация в составе терапевтического белка, такого как антитело, будет зависеть от конечного применения фармацевтического состава и может быть легко определена специалистом из уровня техники.

Терапевтические белки, которые являются антагонистами, нередко вводят в более высоких концентрациях, чем те, которые являются агонистами. В частности, предусматриваемые высокие концентрации терапевтических белков (без учета массы химических модификаций, таких как пегилирование), в том числе антител, составляют по меньшей мере около 70, 80, 90, 100, 110, 120, 130, 140, 150, 175, 180, 185, 190, 195, 200, 250, 300, 350, 400, 450, 500 мг/мл и (или) менее чем около 250, 300, 350, 400, 450 или 500 мг/мл. Примеры высоких концентраций терапевтических белков, таких как антитела, в составе могут находиться в диапазоне от по меньшей мере около 100 до около 500 мг/мл. Дополнительно, предусматриваются другие концентрации белка (без учета массы химических модификаций, таких как пегилирование), например, по меньшей мере около 1, 5, 10, 20, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65 или 70 мг/мл. В частности, настоящее изобретение предусматривает составы и способы, в которых концентрация терапевтического белка приводит к вязкости по меньшей мере 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 25, 30, 35 сП или более, например, 100, 125, 150, 175 или 200 сП, причем введение вспомогательного вещества, выбранного из группы, состоящей из N-ацетиларгинина, N-ацетиллизина, N-ацетилгистидина и N-ацетилпролина и их смесей, приводит к снижению вязкости на 5% или более. Например, раствор с вязкостью около 30 сП может быть трудно ввести с помощью стандартной иглы 27 калибра. В настоящем документе все ссылки на концентрацию терапевтического белка (мг/мл), массу терапевтического белка (мг) или молекулярную массу терапевтического белка (кДа) обозначают соответствующую массу белковой части терапевтического белка, исключая любые небелковые модификации.

В настоящем изобретении предлагается способ снижения вязкости и/или повышения стабильности жидкого фармацевтического состава терапевтического белка путем объединения терапевтического белка и вспомогательного вещества, выбранного из группы, состоящей из N-ацетиларгинина, N-ацетиллизина, N-ацетилгистидина, N-ацетилпролина и их смесей, в количестве, снижающим вязкость.

В примерных вариантах реализации изобретения терапевтический белок присутствует в высокой концентрации белка, как описано выше. В некоторых вариантах реализации изобретения снижение вязкости составляет по меньшей мере около 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80% или 85%, по сравнению с контрольными составами.

В другом аспекте настоящего изобретения предлагаются жидкие растворы, содержащие терапевтический белок и вспомогательное вещество, выбранное из группы, состоящей из N-ацетиларгинина, N-ацетиллизина, N-ацетилгистидина, N-ацетилпролина и их смесей, причем составы обладают пониженной вязкостью по сравнению с контрольными составами. В примерных вариантах реализации изобретения терапевтический белок присутствует в высокой концентрации белка, как описано выше. В некоторых вариантах реализации изобретения описанное в настоящем документе вспомогательное вещество присутствует в понижающей вязкости концентрации (масса:объем). Любое из указанных вспомогательных веществ может применяться в концентрациях вплоть до его предела растворимости. Такие растворы могут дополнительно содержать сахар или другой полиол, такой как сахароза или сорбит, или аминокислоту, такую как аргинин, пролин, гистидин, лизин, глицин, метионин и т.д., в количестве, эффективном для дальнейшего улучшения стабильности, уменьшения агрегации и/или обеспечения изотоничности состава, без значительного повышения вязкости.

В примерных вариантах реализации концентрация вспомогательного вещества, выбранного из группы, состоящей из N-ацетиларгинина, N-ацетиллизина, N-ацетилгистидина, N-ацетилпролина и их

смесей, составляет по меньшей мере от около 50 до около 300 мМ или по меньшей мере от около 100 мМ до около 250 мМ или по меньшей мере от около 140 до 200 мМ. В примерных вариантах реализации концентрация вспомогательного вещества составляет по меньшей мере около 50, 100, 105, 110, 115, 120, 125, 130, 135, 140, 145, 150, 155, 160, 165, 170, 175, 180, 185, 190, 195, 200, 210, 220, 250 или 300 мМ или более. Другие примерные варианты реализации включают концентрации вспомогательных веществ, эффективные с точки зрения изотоничности состава, без значительного повышения вязкости. Примерные концентрации включают по меньшей мере около 180 мМ или более, в других вариантах реализации изобретения количество составляет по меньшей мере около 200 мМ или более.

В другом аспекте настоящего изобретения предлагаются лиофилизированные составы белков, содержащие терапевтический белок и вспомогательное вещество, выбранное из группы, состоящей из N-ацетиларгинина, N-ацетиллизина, N-ацетилгистидина, N-ацетилпролина и их смесей, причем при разведении рекомендованным количеством разбавителя составы проявляют пониженную вязкость по сравнению с контрольными составами. В примерных вариантах реализации изобретения терапевтический белок присутствует в высокой концентрации белка, как описано выше. В некоторых вариантах реализации изобретения вспомогательное вещество присутствует в количестве, эффективном для снижения вязкости при разведении разбавителем (массовая концентрация). Такие составы могут дополнительно содержать сахар или другой полиол, такой как сахароза или сорбит, или по меньшей мере одну аминокислоту, такую как аргинин, пролин, гистидин, лизин, глицин, метионин и т.д., в количестве, эффективном с точки зрения дальнейшего повышения стабильности, уменьшения агрегации и/или обеспечения изотоничности состава, без значительного повышения вязкости.

В примерных вариантах реализации изобретения концентрация вспомогательного вещества, выбранного из группы, состоящей из N-ацетиларгинина, N-ацетиллизина, N-ацетилгистидина, N-ацетилпролина и их смесей, составляет по меньшей мере от около 1 мкг на мг терапевтического белка до около 1,0 мг на мг терапевтического белка. В некоторых вариантах реализации изобретения концентрация вспомогательного вещества составляет по меньшей мере около 1, 10, 50, 100, 150, 200, 250, 300, 350, 400, 450, 500 или 550 мкг на мг терапевтического белка. В других примерных вариантах реализации изобретения концентрация вспомогательного вещества составляет вплоть до около 600, 650, 700, 750, 800, 850, 900, 950 и 1000 мкг на мг терапевтического белка.

В еще одном варианте реализации настоящего изобретения предлагается способ предотвращения самоассоциации белков в жидких составах с применением N-ацетиларгинина, N-ацетиллизина, N-ацетилгистидина, N-ацетилпролина и их смесей в качестве вспомогательного вещества в любом из описанных в настоящем документе количествах или концентраций. Кроме того, предлагаются составы с повышенной стабильностью (например, уменьшенной агрегацией) и увеличенным сроком годности.

Дополнительно, в изобретении предлагается набор, включающий жидкий состав белков по изобретению и инструкции по его введению, при необходимости с емкостью, шприцем и/или другим устройством для введения. Кроме того, изобретение относится к набору, содержащему лиофилизированный состав белков по настоящему изобретению, необязательно в емкости, и инструкции по его разведению и введению, при необходимости, с флаконом стерильного разбавителя и необязательно с шприцом или другим устройством для введения. Примеры емкостей включают флаконы, пробирки, бутыли, одно- или многокамерные предварительно заполненные шприцы и картриджи. Примеры устройств для введения включают шприцы с иглами или без них, инфузионные насосы, струйные инжекторы, шприц-ручки, трансдермальные инжекторы или другой безыгольный инжектор или аэрозольные устройства для назального или внутривенного введения.

В другом аспекте предлагается способ скрининга для определения понижающей вязкость концентрации вспомогательного вещества, включающий стадии: (1) оценка вязкости первого раствора, содержащего первую концентрацию вспомогательного вещества, выбранного из группы, состоящей из N-ацетиларгинина, N-ацетиллизина, N-ацетилгистидина, N-ацетилпролина и их смесей, и терапевтический белок, такой как антитело, (2) оценка вязкости второго раствора, содержащего различные концентрации вспомогательного вещества и второй терапевтический белок, и (3) установление того факта, что первая концентрация вспомогательного вещества в большей степени понижает вязкость, чем вторая концентрация вспомогательного вещества, если первый раствор является менее вязким. Вязкость может быть определена, например, с помощью вискозиметра Aries ARG2 или Brookfield RV-DVIII.

Аналогичные способы предназначены для скрининга на предмет уменьшающей агрегацию или стабилизирующей концентрации вспомогательного вещества.

Стабильность можно оценить многими способами, включая контроль изменения конформации в диапазоне температур (термостабильность) и/или на протяжении периодов времени (срок годности) и/или под воздействием стрессового обращения (например, физическое встряхивание). Стабильность составов, содержащих различные концентрации компонентов состава, может быть измерена с помощью различных способов. Например, количественная оценка агрегации белка может быть произведена путем визуального наблюдения мутности, путем измерения оптической плотности при определенной длине волны, с помощью эксклюзионной хроматографии (в ходе которой агрегаты белка будут элюироваться в других фракциях, нежели белок в его природном активном состоянии), ВЭЖХ или других хроматографий.

фических методов. Могут применяться другие способы измерения конформационных изменений, в том числе, с применением дифференциальной сканирующей калориметрии (ДСК), например, для определения температуры денатурации, или кругового диахроизма (CD), в ходе чего измеряется молярная эллиптичность белка. Кроме того, флуоресценция может применяться для анализа состава. Флуоресценция охватывает выделение или поглощение энергии в виде света или тепла и изменение полярных свойств света. Флуоресцентное излучение может быть свойственно белку или может быть обусловлено флуоресценцией репортерной молекулы. Например, 8-нафталин-1-сульфоновая кислота (НСК) представляет собой флуоресцентный зонд, который связывается с гидрофобными карманами частично развернутых белков. По мере того, как концентрация развернутого белка повышается, увеличивается количество гидрофобных карманов и, следовательно, концентрация НСК, который может связываться. Такое увеличение связывания НСК можно контролировать путем обнаружения флуоресцентного сигнала белкового образца. Другие средства для измерения стабильности могут применяться и хорошо известны специалистам из уровня техники.

Изобретение будет более полно понято со ссылкой на следующие примеры с подробными примерными вариантами реализации изобретения. Однако их не следует рассматривать как ограничивающие объем изобретения. Все ссылки в настоящем документе включены в настоящий документ посредством ссылки.

### Примеры

#### Пример 1

Состав, содержащий антитело IgG2 (140 мг/мл) (антитело А), диализируют против 10 мМ раствора глутамата натрия, содержащего 1% сахарозы, pH 5,2, с применением гофрированной трубы для диализа Snakeskin®, Номинальное Отсечение по Молекулярной Массе (НОММ) 10000 (Thermo Fisher Scientific, Уолтхэм, Массачусетс). Аликвоты по 1 мл раствора антитела А 120 мг/мл в 10 мМ растворе глутамата натрия, содержащем 1% сахарозы, pH 5,2, переносят во флаконы емкостью 3 куб. см. Флаконы лиофилизируют с помощью лиофилизатора Virtis. Содержимое флаконов разбавляют 450 мкл различных растворов (вода в качестве контроля или растворы вспомогательных веществ 200 мМ). После разведения, концентрации антитела А были определены с помощью прибора SOLO-VPE, как 190 мг/мл. Вязкость измеряют с помощью вискозиметра Aries ARG2 при 25°C, результаты представлены в табл. 1 ниже.

Таблица 1. Составы антитела А со вспомогательным веществом, 190 мг/мл при 20°C

| Идентификатор буферного раствора | Вспомогательное вещество   |
|----------------------------------|----------------------------|
| A                                | 200 мМ пролина             |
| B                                | 200 мМ аргинина глутамата  |
| C                                | 200 мМ N-ацетил-L-аргинина |
| D                                | 200 мМ гуанидинпропионата  |
| E                                | 200 мМ тауроциамина        |
| F                                | 200 мМ N-ацетил-L-пролина  |
| G                                | 200 мМ N-ацетил-L-глицина  |
| H                                | 200 мМ N-ацетил-L-лизина   |
| I                                | контроль, вода             |

На фиг. 1 проиллюстрировано влияние различных вспомогательных веществ на вязкость раствора антитела. Данные показывают, что испытанные вспомогательные вещества дают пониженную вязкость по сравнению с водой в качестве контроля.

#### Пример 2

Состав, содержащий антитело IgG1 (70 мг/мл) (антитело В), и состав, содержащий антитело IgG2 (70 мг/мл) (антитело С), диализируют против 20 мМ раствора ацетата натрия, pH 4,7 и 4,9, соответственно, с применением диализной трубы НОММ 10000. Образцы антител концентрируют с применением центрифужных фильтров НОММ 30000 и центрифуги Allegra X-12 R. Концентрации антител в образцах определяют с помощью спектрофотометра Agilent в УФ и видимой области спектра. Содержащие вспомогательное вещество образцы готовят, добавляя к нерасфасованному концентрированному раствору навески твердых вспомогательных веществ. Вязкие образцы переносят с помощью пипеток с прямым вытеснением. Вязкость измеряют с помощью программируемого вискозиметра Brookfield RV-DV III+ при 25°C, результаты приведены в табл. 2.1 и 2.2 ниже.

Таблица 2.1. Антитело В - 210 мг/мл

| Состав                               | Вязкость (сП), 225/с, 25°C |
|--------------------------------------|----------------------------|
| Контроль без вспомогательных веществ | 26,0                       |
| 200 мМ N-ацетил-L-аргинина           | 14,3                       |

Таблица 2.2. Антитело С - 140 мг/мл

| Состав                               | Вязкость (сП), 225/c, 25°C |
|--------------------------------------|----------------------------|
| Контроль без вспомогательных веществ | 22,7                       |
| 200 мМ N-ацетил-L-аргинина           | 10,0                       |

В случае вспомогательного вещества N-ацетил-1-аргинина, снижение вязкости для антитела В составило около 45%, а снижение вязкости для антитела С - около 56%.

#### Пример 3

Состав, содержащий антитело IgG2 (140 мг/мл) (антитело D), диализируют против 10 мМ раствора глутамата натрия, содержащего 1% сахарозы, pH 5,2, с применением гофрированной трубы для диализа Snakeskin® HOMM 10000 (Thermo Fisher Scientific, Уолтхэм, Массачусетс). Аликовты по 1 мл раствора антитела D 100 мг/мл в 10 мМ растворе глутамата натрия, содержащем 1% сахарозы, pH 5,2, переносят во флаконы емкостью 3 куб. см. Флаконы лиофилизируют с помощью лиофилизатора Virtis. Содержимое флаконов разбавляют 450 мкл воды (в качестве контроля без вспомогательных веществ) или 10 мМ раствора глутамата, содержащего 200 мМ N-ацетил-L-аргинина, pH 5,2. Концентрации антитела D определяют с помощью прибора SOLO-VPE. Вязкость измеряют с помощью вискозиметра Aries ARG2 при 25°C, результаты представлены в табл. 3.0 ниже.

Таблица 3.0. Антитело D - 175 мг/мл

| Состав                               | Вязкость (сП), 1000/c, 25°C |
|--------------------------------------|-----------------------------|
| Контроль без вспомогательных веществ | 38,7                        |
| 200 мМ N-ацетил-1-аргинина           | 23,4                        |

В случае вспомогательного вещества N-ацетил-1-аргинина, снижение вязкости для антитела D составило около 40%.

#### Пример 4

Состав, содержащий антитело IgG2 (140 мг/мл) (антитело E), концентрируют до 200 мг/мл с применением ультрафильтрации и диафильтрации 6 диафильтрационных объемов Буферного раствора А (10 мМ глутамата, 260 мМ N-ацетил-1-аргинина, pH 4,6) или Буферного раствора В (10 мМ глутамата натрия, pH 4,6). Конечное значение pH образцов УФДФ определено, как 5,2. Концентрацию антитела E определяют с помощью прибора SOLO-VPE. Вязкость измеряют с помощью вискозиметра Aries ARG2 при 20°C, результаты представлены в табл. 4.0 ниже.

Таблица 4.0. Антитело Е - 200 мг/мл

| Состав   | Вязкость (сП), 1000/c, 20°C |
|--|-----------------------------|
| Антитело Е в Буферном растворе В<br>(контроль)                   | 62,1                        |
| Антитело Е в Буферном растворе А<br>(260 мМ N-ацетил-L-аргинина) | 28,6                        |

В случае вспомогательного вещества N-ацетил-1-аргинина, снижение вязкости для антитела Е составило около 54%.

#### Пример 5

Состав, содержащий антитело IgG2 (140 мг/мл) (антитело A), диализируют против 10 мМ раствора глутамата натрия, содержащего 1% сахарозы, pH 5,2, с применением гофрированной трубы для диализа Snakeskin® HOMM 10000 (Thermo Fisher Scientific, Уолтхэм, Массачусетс). Аликовты по 1 мл раствора антитела A 120 мг/мл в 10 мМ растворе глутамата натрия, содержащем 1% сахарозы, pH 5,2, переносят во флаконы емкостью 3 куб. см. Флаконы лиофилизируют с помощью лиофилизатора Virtis. Содержимое флаконов разбавляют 450 мкл одного из различных растворов (вода в качестве контроля или растворы вспомогательных веществ 200 мМ) (см. табл. 5 ниже). После разведения, концентрации антитела A были определены с помощью прибора SOLO-VPE, как 190 мг/мл. Вязкость измеряют с помощью вискозиметра Aries ARG2 при 25°C, результаты представлены в табл. 5 ниже.

Таблица 5. Составы антитела А со вспомогательным веществом,  
190 мг/мл при 20°C

| Идентификатор буферного раствора | Вспомогательное вещество    |
|----------------------------------|-----------------------------|
| A                                | 200 мМ гистидина            |
| B                                | 200 мМ N-ацетил-L-гистидина |
| C                                | 200 мМ N-ацетил-L-аргинина  |
| D                                | контроль                    |

На фиг. 2 проиллюстрировано влияние различных вспомогательных веществ на вязкость раствора антитела. Данные показывают, что испытанные вспомогательные вещества дают пониженную вязкость по сравнению с контролем, а также вспомогательные вещества N-ацетил-L-аргинин и N-ацетил-L-гистидин дают пониженную вязкость по сравнению с гистидином в качестве единственного вспомогательного вещества.

#### ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ снижения вязкости жидкого фармацевтического состава, включающего терапевтический белок в концентрации по меньшей мере 70 мг/мл, включающий стадию объединения терапевтического белка с вспомогательным веществом, выбранным из группы, состоящей из N-ацетиларгинина, N-ацетиллизина, N-ацетилгистидина, N-ацетилпролина и их смесей в концентрации, снижающей вязкость, где вязкость снижается по меньшей мере на 5% по сравнению с контрольным составом и где концентрация вспомогательного вещества составляет менее около 200 мМ.

2. Способ по п.1, отличающийся тем, что вспомогательное вещество является N-ацетиларгинином.
3. Способ по п.1, отличающийся тем, что вспомогательное вещество является N-ацетиллизином.
4. Способ по п.1, отличающийся тем, что вспомогательное вещество является N-ацетилгистидином.
5. Способ по п.1, отличающийся тем, что вспомогательное вещество является N-ацетилпролином.
6. Способ по п.1, отличающийся тем, что вязкость состава понижается по меньшей мере на 25%.
7. Способ по п.1, отличающийся тем, что вязкость состава понижается по меньшей мере на 50%.
8. Способ по п.1, отличающийся тем, что вязкость состава понижается по меньшей мере на 80%.

9. Фармацевтический состав для парентерального введения, содержащий терапевтический белок в концентрации по меньшей мере 70 мг/мл, и вспомогательное вещество, выбранное из группы, состоящей из N-ацетиларгинина, N-ацетиллизина, N-ацетилгистидина, N-ацетилпролина и их смесей в концентрации, снижающей вязкость, где вязкость снижается по меньшей мере на 5% по сравнению с контрольным составом и где концентрация вспомогательного вещества составляет менее чем 200 мМ.

10. Фармацевтический состав по п.9, отличающийся тем, что вспомогательное вещество является N-ацетиларгинином.

11. Фармацевтический состав по п.9, отличающийся тем, что вспомогательное вещество является N-ацетиллизином.

12. Фармацевтический состав по п.9, отличающийся тем, что вспомогательное вещество является N-ацетилгистидином.

13. Фармацевтический состав по п.9, отличающийся тем, что вспомогательное вещество является N-ацетилпролином.

14. Фармацевтический состав по любому из пп.9-13, отличающийся тем, что pH составляет от около 4,0 до около 8,0.

15. Фармацевтический состав по п.14, отличающийся тем, что pH составляет от около 4,6 до 5,4.

16. Способ получения лиофилизированного порошка, включающий стадию лиофилизации фармацевтического состава по любому из пп.9-15.

17. Лиофилизованный порошок, приемлемый для восстановления в раствор, содержащий терапевтический белок и вспомогательное вещество, выбранное из группы, состоящей из N-ацетиларгинина, N-ацетиллизина, N-ацетилгистидина, N-ацетилпролина и их смесей, где вспомогательное вещество присутствует в концентрации от около 100 мкг вспомогательного вещества на мг терапевтического белка до около 1 мг вспомогательного вещества на мг терапевтического белка, полученный лиофилизацией фармацевтического состава по любому из пп. 9-15.

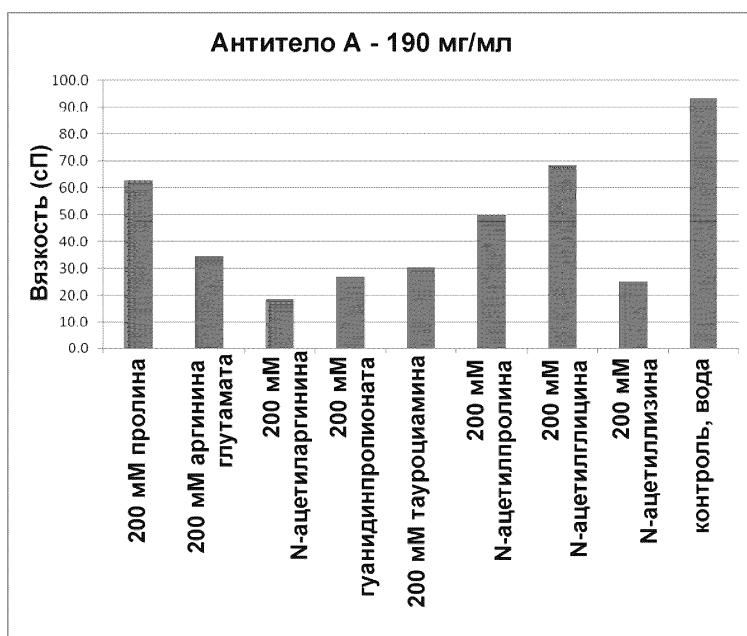
18. Лиофилизованный порошок по п.17, отличающийся тем, что вспомогательное вещество присутствует в концентрации от около 200 до около 500 мкг на мг терапевтического белка и до около 1 мг на мг терапевтического белка.

19. Способ разведения лиофилизированного порошка по п.17 или 18, включающий стадию добавления стерильного водного разбавителя.

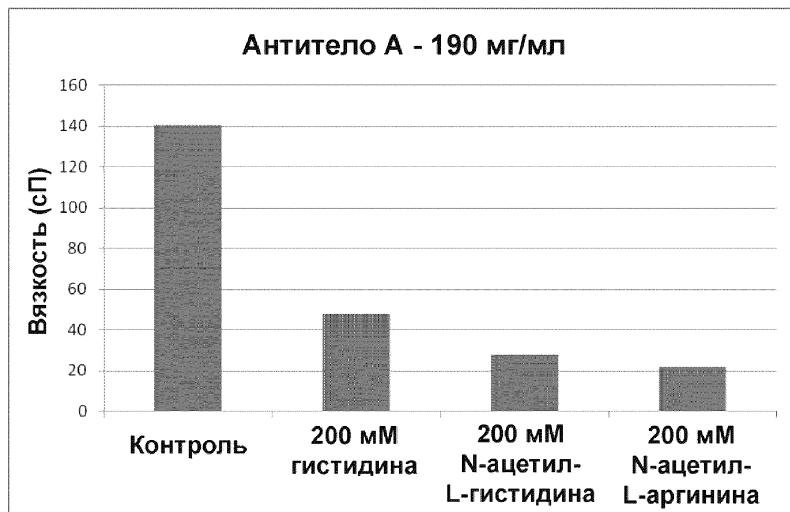
20. Способ по любому из пп.1-8, 16 или 19, отличающийся тем, что терапевтический белок выбран из группы, состоящей из антитела, пептидного антитела, иммуноглобулин-подобного белка, не являющегося антителом белка, не-иммуноглобулин-подобных белков и их аналогов и производных.

21. Фармацевтический состав по любому из пп.9-15, отличающийся тем, что терапевтический белок выбран из группы, состоящей из антитела, пептидного антитела, иммуноглобулин-подобного белка, не являющегося антителом белка, не-иммуноглобулин-подобных белков и их аналогов и производных.

22. Лиофилизированный порошок по любому из пп.17-18, отличающийся тем, что терапевтический белок выбран из группы, состоящей из антитела, пептидного антитела, иммуноглобулин-подобного белка, не являющегося антителом белка, не-иммуноглобулин-подобных белков и их аналогов и производных.



Фиг. 1



Фиг. 2

