



**ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ**

(12) ЗАЯВКА НА ИЗОБРЕТЕНИЕ

(21)(22) Заявка: 2016103079, 03.07.2014

Приоритет(ы):

(30) Конвенционный приоритет:

04.07.2013 US 61/843,011;

15.04.2014 US 61/979,886

(43) Дата публикации заявки: 07.08.2017 Бюл. № 22

(85) Дата начала рассмотрения заявки РСТ на
национальной фазе: 04.02.2016

(86) Заявка РСТ:

IB 2014/062806 (03.07.2014)

(87) Публикация заявки РСТ:

WO 2015/001504 (08.01.2015)

Адрес для переписки:

191002, Санкт-Петербург, а/я 5, ООО "Ляпунов
и партнёры"

(71) Заявитель(и):

**ПРОТЕНА БИОСАЙЕНСИС ЛИМИТЕД
(IE)**

(72) Автор(ы):

**ГАРИДЕЛЬ Патрик (DE),
ЛАНГЕР Андреас (DE),
ГРАНДМЭН Майкл (US)****(54) СОСТАВЫ АНТИТЕЛ И СПОСОБЫ****(57) Формула изобретения****1. Фармацевтический состав, содержащий:**

(а) химерный, венированный или гуманизированный вариант антитела 9Е4 (номер доступа в АТСС РТА-8221) или его фрагмент, который специфичным образом конкурирует за связывание антигена с 9Е4, причем указанное антитело присутствует в диапазоне концентраций от приблизительно 10 мг/мл до приблизительно 50 мг/мл;

(b) цитратный буфер или сукцинатный буфер, присутствующий в диапазоне концентраций от приблизительно 10 мМ до приблизительно 30 мМ;

(с) один или более сахар и полиол («сахар/полиол»), выбранные из:

(i) трегалозы, присутствующей в диапазоне концентраций от приблизительно 220 мМ до приблизительно 260 мМ,

(ii) сахарозы, присутствующей в диапазоне концентраций от приблизительно 220 мМ до приблизительно 260 мМ,

(iii) и смеси сахарозы, присутствующей в диапазоне концентраций от приблизительно 20 мМ до приблизительно 40 мМ, и маннита, присутствующего в диапазоне концентраций от приблизительно 200 мМ до приблизительно 220 мМ; и

(d) полисорбат 20, присутствующий в диапазоне массовых концентраций от приблизительно 0,005% до приблизительно 0,05%;

причем указанный состав характеризуется рН в диапазоне от приблизительно 5,5 до приблизительно 7.

2. Состав по п. 1, отличающийся тем, что указанное антитело представляет собой гуманизированный вариант антитела 9Е4.
3. Состав по п. 1, отличающийся тем, что указанное антитело содержит переменную область легкой цепи с аминокислотной последовательностью, содержащей SEQ ID NO: 5.
4. Состав по п. 1, отличающийся тем, что указанное антитело содержит переменную область тяжелой цепи с аминокислотной последовательностью, содержащей SEQ ID NO: 10.
5. Состав по п. 2, отличающийся тем, что указанное антитело содержит переменную область легкой цепи с аминокислотной последовательностью, содержащей любую из SEQ ID NO: 3-5, и переменную область тяжелой цепи с аминокислотной последовательностью, содержащей любую из SEQ ID NO: 8-10.
6. Состав по п. 2, отличающийся тем, что указанное антитело содержит легкую цепь с аминокислотной последовательностью, содержащей SEQ ID NO: 5, и тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью, содержащей SEQ ID NO: 10.
7. Состав по п. 1, отличающийся тем, что указанное антитело содержит переменную область легкой цепи, содержащую три CDR согласно определению по Кабат из последовательности SEQ ID NO: 4, и переменную область тяжелой цепи, содержащую три CDR согласно определению по Кабат из последовательности SEQ ID NO: 11.
8. Состав по п. 1, отличающийся тем, что указанное антитело присутствует в концентрации приблизительно 40 мг/мл.
9. Состав по любому из пп. 1-8, отличающийся тем, что указанный буфер представляет собой цитратный буфер, присутствующий в концентрации приблизительно 20 мМ.
10. Состав по п. 9, отличающийся тем, что рН составляет приблизительно 6,0.
11. Состав по п. 9, отличающийся тем, что указанный цитратный буфер содержит дигидрат цитрата натрия и моногидрат лимонной кислоты.
12. Состав по п. 11, отличающийся тем, что указанный дигидрат цитрата натрия присутствует в диапазоне концентраций от приблизительно 15 мМ до приблизительно 20 мМ, а указанный моногидрат лимонной кислоты присутствует в диапазоне концентраций от приблизительно 2 мМ до приблизительно 6 мМ.
13. Состав по любому из пп. 1-8, отличающийся тем, что указанный буфер представляет собой сукцинатный буфер и присутствует в концентрации приблизительно 20 мМ.
14. Состав по п. 13, отличающийся тем, что рН составляет приблизительно 6,5.
15. Состав по любому из пп. 1-8, отличающийся тем, что указанный сахар/полиол представляет собой трегалозу, присутствующую в концентрации приблизительно 230 мМ.
16. Состав по любому из пп. 1-8, отличающийся тем, что указанный сахар/полиол представляет собой смесь сахарозы, присутствующей в концентрации приблизительно 28 мМ, и маннита, присутствующего в концентрации приблизительно 212 мМ.
17. Состав по любому из пп. 1-8, характеризующийся осмоляльностью от приблизительно 295 мОсм/кг до приблизительно 375 мОсм/кг.
18. Состав по п. 17, характеризующийся осмоляльностью, равной приблизительно 335 мОсм/кг.
19. Состав по любому из пп. 1-8, отличающийся тем, что менее чем приблизительно 10% антитела присутствует в указанном составе в виде агрегата.
20. Состав по п. 19, отличающийся тем, что менее чем приблизительно 5% антитела присутствует в указанном составе в виде агрегата.
21. Состав по любому из пп. 1-8, дополнительно содержащий наполнитель.
22. Состав по любому из пп. 1-8, являющийся стерильным.

23. Состав по любому из пп. 1-8, являющийся стабильным при замораживании и размораживании.

24. Состав по любому из пп. 1-8, в котором по меньшей мере 80% белка проявляется в виде одиночного пика при высокопроизводительной эксклюзионной хроматографии после хранения в течение по меньшей мере 30 дней при 38-42°C, хранения в течение по меньшей мере одного года при 20-24°C и/или хранения в течение по меньшей мере трех лет при 2-4°C.

25. Состав по любому из пп. 1-8, содержащий не более 15 мас.% агрегированного белка согласно высокопроизводительной эксклюзионной хроматографии после хранения в течение по меньшей мере 30 дней при 38-42°C, хранения в течение по меньшей мере одного года при 20-24°C и/или хранения в течение по меньшей мере трех лет при 2-4°C.

26. Состав по п. 1, отличающийся тем, что:

(а) указанное антитело содержит легкую цепь с аминокислотной последовательностью, содержащей SEQ ID NO: 29, и тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью, содержащей SEQ ID NO: 32, с С-концевым остатком лизина или без него, и присутствует в концентрации приблизительно 40 мг/мл;

(b) цитратный буфер присутствует в концентрации приблизительно 20 мМ;

(с) трегалоза присутствует в концентрации приблизительно 230 мМ;

(d) полисорбат 20 присутствует в концентрации приблизительно 0,02%; и

(е) рН составляет приблизительно 6,0.

27. Состав по п. 1, отличающийся тем, что:

(а) указанное антитело содержит легкую цепь с аминокислотной последовательностью, содержащей SEQ ID NO: 29, и тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью, содержащей SEQ ID NO: 31, с С-концевым остатком лизина или без него, и присутствует в концентрации приблизительно 40 мг/мл;

(b) цитратный буфер присутствует в концентрации приблизительно 20 мМ;

(с) трегалоза присутствует в концентрации приблизительно 230 мМ;

(d) полисорбат 20 присутствует в концентрации приблизительно 0,02%; и

(е) рН составляет приблизительно 6,0.

28. Лиофилизированный состав антитела, содержащий:

(а) гуманизированный вариант антитела 9Е4 (номер доступа в АТСС РТА-8221) или его антиген-связывающий фрагмент;

(b) цитрат;

(с) трегалозу и

(d) полисорбат 20.

29. Лиофилизированный состав по п. 28, который при добавлении воды восстанавливается до водного раствора, содержащего:

(а) антитело, содержащее легкую цепь с аминокислотной последовательностью, содержащей SEQ ID NO: 29, и тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью, содержащей SEQ ID NO: 31, с С-концевым остатком лизина или без него, и присутствующее в концентрации приблизительно 40 мг/мл;

(b) цитратный буфер, присутствующий в концентрации приблизительно 20 мМ;

(с) трегалозу, присутствующую в концентрации приблизительно 230 мМ;

(d) полисорбат 20, присутствующий в концентрации приблизительно 0,02%; и при этом

(е) рН указанного раствора составляет приблизительно 6,0.

30. Лиофилизированный состав по п. 28, содержащий от приблизительно 40 мг до приблизительно 1000 мг указанного антитела.

31. Лиофилизированный состав по п. 28, содержащий:

(а) 200 мг указанного антитела;

- (b) 25 мг дигидрата цитрата натрия;
- (c) 3,15 мг моногидрата лимонной кислоты;
- (d) 435 мг дигидрата трегалозы и
- (e) 1 мг полисорбата 20.

32. Лиофилизированный состав по п. 28, который при добавлении воды восстанавливается до состава с pH от приблизительно 5,5 до приблизительно 6,5.

33. Лиофилизированный состав по п. 32, отличающийся тем, что pH указанного состава после восстановления составляет приблизительно 6,0.

34. Лиофилизированный состав по п. 28, содержащий от приблизительно 10 мг до приблизительно 40 мг указанного антитела.

35. Лиофилизированный состав по п. 28, отличающийся тем, что указанный полисорбат 20 присутствует в количестве в диапазоне от приблизительно 0,01 мас.% до приблизительно 0,05 мас.%.

36. Лиофилизированный состав по п. 28, который при добавлении воды восстанавливается до водного раствора, содержащего:

(a) антитело, содержащее легкую цепь с аминокислотной последовательностью, содержащей SEQ ID NO: 29, и тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью, содержащей SEQ ID NO: 32, с С-концевым остатком лизина или без него, и присутствующее в концентрации приблизительно 40 мг/мл;

(b) цитратный буфер, присутствующий в концентрации приблизительно 20 мМ;

(c) трегалозу, присутствующую в концентрации приблизительно 230 мМ;

(d) полисорбат 20, присутствующий в концентрации приблизительно 0,02%; и при этом

(e) pH указанного раствора составляет приблизительно 6,0.

37. Лиофилизированный состав по п. 36, отличающийся тем, что указанный лиофилизированный состав содержит приблизительно 200 мг указанного антитела и позволяет осуществлять восстановление стерильной водой.

38. Лиофилизированный состав по п. 28, содержащий:

(a) 200 мг указанного антитела;

(b) 25 мг дигидрата цитрата натрия;

(c) 2,15 мг моногидрата лимонной кислоты;

(d) 435 мг дигидрата трегалозы и

(e) 1 мг полисорбата 20.

39. Способ терапевтического или профилактического лечения пациента-человека, имеющего синуклеопатию или подверженного риску синуклеопатии, причем указанный способ включает введение указанному пациенту эффективной дозировки состава по любому из пп. 1-27.

40. Способ по п. 39, отличающийся тем, что указанный состав добавляют в мешок для внутривенного введения указанному пациенту.

41. Способ по п. 39, отличающийся тем, что у указанного пациента-человека диагностирована болезнь Паркинсона.

42. Способ по п. 41, отличающийся тем, что указанного пациента также лечат одним или более из леводопы, бенсеразида, карбидопы, ингибитора катехол О-метилтрансферазы («КОМТ»), агониста дофамина, получаемого не из спорыньи, ингибитора моноаминоксидазы («МАО») и амантадина.

43. Способ по п. 42, отличающийся тем, что указанный ингибитор КОМТ представляет собой энтакапон или толкапон, а указанный ингибитор МАО представляет собой разагилин.

44. Способ по любому из пп. 39-43, отличающийся тем, что указанный состав вводят посредством нескольких доз.

45. Способ по п. 44, отличающийся тем, что указанный состав вводят с частотой, находящейся в диапазоне от приблизительно раз в день до приблизительно раз в год.
46. Способ по п. 45, отличающийся тем, что указанная частота находится в диапазоне от приблизительно раз в неделю до приблизительно раз в три месяца.
47. Способ по п. 45, отличающийся тем, что указанная частота составляет приблизительно раз в четыре недели.
48. Способ по любому из пп. 39-43, отличающийся тем, что указанный состав вводят внутривенно в диапазоне доз от приблизительно 0,1 мг/кг до приблизительно 50 мг/кг лекарственного вещества - гуманизированного антитела 9E4.
49. Способ по п. 48, отличающийся тем, что указанная доза лекарственного вещества - гуманизированного антитела 9E4 составляет приблизительно 0,3 мг/кг.
50. Способ по п. 48, отличающийся тем, что указанная доза лекарственного вещества - гуманизированного антитела 9E4 составляет приблизительно 1 мг/кг.
51. Способ по п. 48, отличающийся тем, что указанная доза лекарственного вещества - гуманизированного антитела 9E4 составляет приблизительно 3 мг/кг.
52. Способ по п. 48, отличающийся тем, что доза лекарственного вещества - гуманизированного антитела 9E4 составляет приблизительно 10 мг/кг.
53. Способ по п. 48, отличающийся тем, что доза лекарственного вещества - гуманизированного антитела 9E4 составляет приблизительно 30 мг/кг.
54. Фармацевтический продукт, содержащий:
- (a) флакон, содержащий в виде порошка:
 - (i) приблизительно 200 мг антитела;
 - (ii) приблизительно 25 мг дегидрата цитрата натрия;
 - (iii) приблизительно 2,15 мг моногидрата лимонной кислоты;
 - (iv) приблизительно 435 мг дегидрата трегалозы и
 - (v) приблизительно 1 мг полисорбата 20;
 - (b) инструкции по восстановлению указанного антитела и
 - (c) инструкции по получению указанного восстановленного антитела для вливания, при этом:
 - (i) указанное антитело содержит легкую цепь с аминокислотной последовательностью, содержащей SEQ ID NO: 29, и тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью, содержащей SEQ ID NO: 32, с С-концевым остатком лизина или без него; и
 - (ii) согласно инструкции по восстановлению требуется первоначальное растворение водой до объема приблизительно 5 мл.
55. Способ очистки гуманизированного, венированного или химерного антитела 9E4, экспрессируемого клетками СНО, включающий:
- (a) выполнение хроматографии с твердой фазой на основе белка А, причем указанное антитело 9E4 преимущественно связывается с твердой фазой по сравнению с примесями;
 - (b) выполнение анионообменной твердофазной хроматографии, причем указанное антитело 9E4 преимущественно элюируется с твердой фазы по сравнению с примесями;
 - (c) выполнение катионообменной твердофазной хроматографии, причем указанное антитело 9E4 преимущественно связывается с твердой фазой по сравнению с примесями;
 - (d) выполнение этапа инактивации и/или удаления вирусов;
 - (e) выполнение этапа фильтрации; и
 - (f) выполнение этапа концентрирования и ресуспендирования.
56. Способ по п. 55, отличающийся тем, что этапы с использованием белка А, анионного обмена и катионного обмена выполняют в указанном порядке.
57. Способ по п. 56, отличающийся тем, что этап инактивации вирусов выполняют между этапами (a) и (b), а этап удаления вирусов выполняют после этапа (c).
58. Способ по п. 57, отличающийся тем, что этап фильтрации выполняют между

этапом инактивации вирусов и этапом анионного обмена и после этапа катионного обмена.

59. Способ очистки гуманизированного, венированного или химерного антитела 9Е4, экспрессируемого клетками СНО, включающий:

(а) загрузку культуральной среды, полученной от клеток, экспрессирующих антитело 9Е4, на колонку с белком А, причем гуманизированное антитело 9Е4 связывается с указанной колонкой, и снижение рН для элюирования фракции, содержащей антитело 9Е4;

(b) инкубирование фракции, полученной на этапе (а), в кислой среде для инактивации вирусов;

(с) глубинную фильтрацию фракции, полученной после этапа (b), для снижения количества частиц;

(d) анионообменную твердофазную хроматографию фильтрата, полученного на этапе (с), содержащего антитело 9Е4, причем примеси в указанной фракции связываются с колонкой, а указанное антитело 9Е4 элюируется через колонку;

(е) катионообменную твердофазную хроматографию фракции, полученной на этапе (d), содержащей антитело 9Е4, причем указанное антитело 9Е4 связывается с колонкой и элюируется при повышении концентрации солей;

(f) подвергание фракции, полученной на этапе (е), содержащей антитело 9Е4, фильтрации вирусов; и

(g) ультра/диафильтрацию фильтрата, содержащего антитело 9Е4, полученного на этапе (f), с целью концентрирования и ресуспендирования указанного антитела 9Е4.

60. Способ по п. 59, отличающийся тем, что указанная анионообменная колонка представляет собой смолу Q-сефароза для высоких скоростей потока.

61. Способ по п. 59, отличающийся тем, что на этапе (а) рН понижают с 6-8 до 2,5-3,5.

62. Способ по п. 59, отличающийся тем, что этап (b) выполняют при рН 3,5.

63. Способ по п. 59, отличающийся тем, что фильтр на этапе (f) представляет собой 0,1-микронный фильтр.

64. Фармацевтический продукт, содержащий:

(а) флакон, содержащий в виде порошка:

(i) приблизительно 200 мг антитела;

(ii) приблизительно 25 мг дегидрата цитрата натрия;

(iii) приблизительно 3,15 мг моногидрата лимонной кислоты;

(iv) приблизительно 435 мг дегидрата трегалозы; и

(v) приблизительно 1 мг полисорбата 20;

(b) инструкции по восстановлению указанного антитела и

(с) инструкции по получению восстановленного антитела для вливания, при этом:

(i) указанное антитело содержит легкую цепь с аминокислотной последовательностью, содержащей SEQ ID NO: 29, и тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью, содержащей SEQ ID NO: 32, с С-концевым остатком лизина или без него; и

(ii) согласно инструкции по восстановлению требуется первоначальное растворение водой до объема приблизительно 5 мл.