

(19)



**Евразийское  
патентное  
ведомство**

(11) **034617**

(13) **B1**

(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ**

- (45) Дата публикации и выдачи патента  
**2020.02.27**
- (21) Номер заявки  
**201791328**
- (22) Дата подачи заявки  
**2011.10.05**
- (51) Int. Cl. *A61K 39/395* (2006.01)  
*C07K 16/28* (2006.01)  
*A61M 5/00* (2006.01)

---

(54) **ДОЗИРОВАННАЯ ФОРМА ЖИДКОЙ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОЙ КОМПОЗИЦИИ,  
СОДЕРЖАЩЕЙ АНТИТЕЛА К РЕЦЕПТОРУ ИНТЕРЛЕЙКИНА-4 (IL-4R)**

---

- (31) **61/390,283; 13/253,103**
- (32) **2010.10.06; 2011.10.05**
- (33) **US**
- (43) **2018.02.28**
- (62) **201390494; 2011.10.05**
- (71)(73) Заявитель и патентовладелец:  
**РИДЖЕНЕРОН  
ФАРМАСЬЮТИКАЛЗ, ИНК. (US)**
- (72) Изобретатель:  
**Дикс Дэниел Б., Тан Сяолин (US)**
- (74) Представитель:  
**Медведев В.Н. (RU)**
- (56) **WO-A1-2010102241  
US-A1-20100015157  
US-B2-7608693**

- 
- (57) Изобретение относится к дозированным формам жидких фармацевтических композиций, содержащих человеческие антитела, которые специфически связываются с альфа-рецептором человеческого интерлейкина-4 (hIL-4R $\alpha$ ). Фармацевтические композиции по изобретению проявляют существенную степень стабильности антител после хранения в течение нескольких месяцев.

**034617**  
**B1**

**034617**  
**B1**

### Область техники

Настоящее изобретение относится к области композиций терапевтических антител. В частности, настоящее изобретение относится к области фармацевтических композиций, содержащих человеческие антитела, которые специфически связываются с рецептором человеческого интерлейкина-4.

### Список последовательностей

Соответствующий текстовый файл списка последовательностей ST.25 подан одновременно с заявкой на данное изобретение. Содержание текстового файла включено в настоящее описание посредством ссылки. Бумажная копия списка последовательностей, которая является идентичной по содержанию соответствующему текстовому файлу ST.25, включена как часть настоящего описания.

### Предшествующий уровень техники

Терапевтические макромолекулы (например, антитела) необходимо составлять таким образом, чтобы не только делать молекулы подходящими для введения пациенту, но также сохранять их стабильность при хранении и последующем применении. Например, терапевтические антитела в водном растворе подвержены разрушению, агрегации или нежелательным химическим модификациям, если раствор составлен неправильно. Стабильность антител в жидкой композиции зависит не только от вида эксципиентов, используемых в композиции, но также от количества и пропорций эксципиентов относительно друг друга. Более того, при получении жидкой композиции необходимо принимать во внимание другие характеристики антител, кроме стабильности. Примеры таких дополнительных характеристик включают вязкость раствора и концентрацию антител, которую может содержать заданная композиция, и визуальное качество или вид композиции. Следовательно, при составлении терапевтических антител необходимо обращать большое внимание на получение композиции, которая остается стабильной, содержит адекватную концентрацию антител и обладает подходящей вязкостью, а также другими характеристиками, которые допускают удобное введение композиции пациентам.

Антитела к альфа-рецептору человеческого интерлейкина-4 (hIL-4R $\alpha$ ) являются одним примером терапевтически важной макромолекулы, которая требует соответствующего составления в композицию. Анти-hIL-4R $\alpha$  антитела являются клинически применимыми для лечения или профилактики заболеваний, таких как атопический дерматит и аллергическая астма, и других состояний. Примеры анти-hIL-4R $\alpha$  антитела описаны, в частности, в патентах США № 7605237; 7608693; 7465450 и 7186809 и патентных заявках США № 2010-0047254 и 2010-0021476.

Хотя анти-hIL-4R $\alpha$  антитела известны, в данной области остается необходимость в новых фармацевтических композициях, содержащих анти-hIL-4R $\alpha$  антитела, которые являются достаточно стабильными и подходящими для введения пациентам.

### Сущность изобретения

Настоящее изобретение удовлетворяет приведенной выше необходимости путем получения дозированных форм фармацевтических композиций, содержащих человеческие антитела, которые специфически связываются с альфа-рецептором человеческого интерлейкина-4 (hIL-4R $\alpha$ ).

В одном варианте осуществления изобретение относится к дозированной форме жидкой фармацевтической композиции, представляющей собой заранее заполненный шприц, где фармацевтическая композиция содержит:

(a) антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, который специфически связывается с альфа-рецептором человеческого интерлейкина-4 (hIL-4R $\alpha$ ), где антитело содержит переменную область тяжелой цепи (HCVR), которая содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1, и переменную область легкой цепи (LCVR), которая содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 5;

(b) от 10 до 15 мМ ацетата;

(c) от 15 до 25 мМ гистидина;

(d) от 2,5 до 10% мас./об. сахарозы;

(e) от 0,1 до 0,3% мас./об. полисорбата;

(f) от 20 до 100 мМ аргинина,

где указанная жидкая фармацевтическая композиция имеет pH от 5,6 до 6,2.

В одном варианте осуществления изобретение относится к дозированной форме жидкой фармацевтической композиции, представляющей собой заранее заполненный шприц, где шприц является нормальновольтфрамным шприцем.

В одном варианте осуществления изобретение относится к дозированной форме жидкой фармацевтической композиции, представляющей собой заранее заполненный шприц, где шприц является низковольтфрамным шприцем.

В одном варианте осуществления изобретение относится к дозированной форме жидкой фармацевтической композиции, представляющей собой заранее заполненный шприц, где шприц включает поршень, покрытый фторуглеродной пленкой.

В одном варианте осуществления изобретение относится к дозированной форме жидкой фармацевтической композиции, представляющей собой заранее заполненный шприц, где шприц является низко-

вольфрамовым шприцем и где шприц включает поршень, покрытый фторуглеродной пленкой.

В одном варианте осуществления изобретение относится к дозированной форме жидкой фармацевтической композиции, представляющей собой заранее заполненный шприц, где по меньшей мере 90% антител имеют нативную конформацию по истечении восьми недель хранения при 45°C.

В одном варианте осуществления изобретение относится к дозированной форме жидкой фармацевтической композиции, представляющей собой заранее заполненный шприц, где менее 45% антител в составе композиции представлены кислыми формами по истечении восьми недель хранения при 45°C.

В одном варианте осуществления изобретение относится к дозированной форме жидкой фармацевтической композиции, представляющей собой заранее заполненный шприц, где по меньшей мере 98% антител в составе композиции имеют нативную конформацию по истечении шести месяцев хранения при 5°C.

В одном варианте осуществления изобретение относится к дозированной форме жидкой фармацевтической композиции, представляющей собой заранее заполненный шприц, где по меньшей мере 4% антител, восстановленных по истечении шести месяцев хранения при 25°C, являются агрегированными.

В одном варианте осуществления изобретение относится к дозированной форме жидкой фармацевтической композиции, представляющей собой заранее заполненный шприц, где композиция содержит антитело или антигенсвязывающий фрагмент в концентрации до 200 мг/мл.

В одном варианте осуществления изобретение относится к дозированной форме жидкой фармацевтической композиции, представляющей собой заранее заполненный шприц, где композиция содержит 175 мг/мл антитела.

В одном варианте осуществления изобретение относится к дозированной форме жидкой фармацевтической композиции, представляющей собой заранее заполненный шприц, где композиция содержит 150 мг/мл антитела.

В одном варианте осуществления изобретение относится к дозированной форме жидкой фармацевтической композиции, представляющей собой заранее заполненный шприц, где композиция содержит 100 мг/мл антитела.

В одном варианте осуществления изобретение относится к дозированной форме жидкой фармацевтической композиции, представляющей собой заранее заполненный шприц, где полисорбатом является полисорбат 20.

В одном варианте осуществления изобретение относится к дозированной форме жидкой фармацевтической композиции, представляющей собой заранее заполненный шприц, где полисорбатом является полисорбат 80.

В одном варианте осуществления изобретение относится к дозированной форме жидкой фармацевтической композиции, представляющей собой заранее заполненный шприц, где композиция содержит полисорбат в концентрации 0,2±0,03% мас./об.

В одном варианте осуществления изобретение относится к дозированной форме жидкой фармацевтической композиции, представляющей собой заранее заполненный шприц, где композиция содержит аргинин в концентрации 25±3,75 мМ.

В одном варианте осуществления изобретение относится к дозированной форме жидкой фармацевтической композиции, представляющей собой заранее заполненный шприц, где композиция содержит аргинин в концентрации 50±7,5 мМ.

В одном варианте осуществления изобретение относится к дозированной форме жидкой фармацевтической композиции, представляющей собой заранее заполненный шприц, где композиция включает:

- (a) 150±50 мг/мл антитела;
- (b) 12,5±2 мМ ацетата;
- (c) 20±3 мМ гистидина;
- (d) 5±0,75% мас./об. сахарозы;
- (e) 0,2±0,03% мас./об. полисорбата 20;
- (f) 25±3,75 мМ аргинина,

где указанная жидкая фармацевтическая композиция имеет рН 5,9±0,3.

В одном варианте осуществления изобретение относится к дозированной форме жидкой фармацевтической композиции, представляющей собой заранее заполненный шприц, где композиция включает:

- (a) 150±50 мг/мл антитела;
- (b) 12,5±2 мМ ацетата;
- (c) 20±3 мМ гистидина;
- (d) 5±0,75% мас./об. сахарозы;
- (e) 0,2±0,03% мас./об. полисорбата 80;
- (f) 25±3,75 мМ аргинина,

где указанная жидкая фармацевтическая композиция имеет рН 5,9±0,3.

В одном варианте осуществления изобретение относится к дозированной форме жидкой фармацевтической композиции, представляющей собой заранее заполненный шприц, где композиция включает:

- (a) 175 мг/мл антитела;
- (b)  $12,5 \pm 2$  мМ ацетата;
- (c)  $20 \pm 3$  мМ гистидина;
- (d)  $5 \pm 0,75\%$  мас./об. сахарозы;
- (e)  $0,2 \pm 0,03\%$  мас./об. полисорбата 20;
- (f)  $50 \pm 7,5$  мМ аргинина,

где указанная жидкая фармацевтическая композиция имеет pH  $5,9 \pm 0,3$ .

В одном варианте осуществления изобретение относится к дозированной форме жидкой фармацевтической композиции, представляющей собой заранее заполненный шприц, где композиция включает:

- (a) 175 мг/мл антитела;
- (b)  $12,5 \pm 2$  мМ ацетата;
- (c)  $20 \pm 3$  мМ гистидина;
- (d)  $5 \pm 0,75\%$  мас./об. сахарозы;
- (e)  $0,2 \pm 0,03\%$  мас./об. полисорбата 80;
- (f)  $50 \pm 7,5$  мМ аргинина,

где указанная жидкая фармацевтическая композиция имеет pH  $5,9 \pm 0,3$ .

Другие варианты осуществления настоящего изобретения будут очевидны из обзора последующего подробного описания.

### **Подробное описание изобретения**

До того, как настоящее изобретение будет описано, следует понимать, что настоящее изобретение не ограничено определенными описанными способами и экспериментальными условиями, такие способы и условия могут варьироваться. Также следует понимать, что терминология, используемая в настоящем описании, предназначена только для целей описания определенных вариантов осуществления изобретения и не предназначена для ограничения, так как объем настоящего изобретения ограничен только приложенной формулой изобретения.

Если не указано иное, все технические и научные термины, используемые в настоящем описании, имеют значения, в общем понимаемые средним специалистом в данной области, к которой относится настоящее изобретение. Как используется в настоящем описании, термин "около", когда используется со ссылкой на определенное указанное числовое значение или диапазон значений, означает, что значение может варьироваться от указанного значения не более чем на 1%. Например, как используется в настоящем описании, выражение "около 100" включает 99 и 101 и все значения между (например, 99,1, 99,2, 99,3, 99,4 и др.).

Хотя все способы и материалы, сходные или эквивалентные описанным в настоящем документе, могут быть использованы при осуществлении или тестировании настоящего изобретения, далее описаны предпочтительные способы и материалы. Все публикации, приведенные в настоящем описании, включены в настоящее описание посредством ссылки для описания во всей их полноте.

### **Фармацевтические композиции**

Как используется в настоящем описании, выражение "фармацевтическая композиция" означает комбинацию по меньшей мере одного активного ингредиента (например, малой молекулы, макромолекулы, соединения и др., которое способно развивать биологический эффект у человека или животного, не являющегося человеком) и по меньшей мере одного неактивного ингредиента, который при комбинировании с активным ингредиентом или одним или более дополнительными неактивными ингредиентами, подходит для терапевтического введения человеку или животному, не являющемуся человеком. Термин "композиция", как используется в настоящем описании, означает "фармацевтическую композицию", если особым образом не указано иное. Настоящее изобретение обеспечивает фармацевтические композиции, содержащие по меньшей мере один терапевтический полипептид. В соответствии с определенными вариантами осуществления настоящего изобретения терапевтическим полипептидом является антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которые связываются специфически с альфа-рецептором человеческого интерлейкина-4 (hIL-4R $\alpha$ ). Более конкретно, настоящее изобретение включает фармацевтические композиции, которые содержат:

- (i) человеческие антитела, которые специфически связываются с hIL-4R $\alpha$ ;
- (ii) систему ацетатного/гистидинового буфера;
- (iii) органический соразтворитель, которым является неионное поверхностно-активное вещество;
- (iv) термический стабилизатор, которым является углеводород; и
- (v) понизитель вязкости.

Специфические примеры компонентов и композиций, включенных в настоящий документ, подробно описаны ниже.

Антитела, которые специфически связываются с hIL-4R.

Фармацевтические композиции по настоящему изобретению могут включать человеческое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которые специфически связываются с hIL-4R $\alpha$ . Как используется в настоящем описании, термин "hIL-4R $\alpha$ " означает рецептор человеческого цитокина, который специфически связывается с интерлейкином-4 (IL-4). В определенных вариантах осуществления изобретения антитела, содержащиеся в фармацевтических композициях по настоящему изобретению, специфически связываются с внеклеточным доменом hIL-4R $\alpha$ . Пример последовательности аминокислот альфа-рецептора человеческого IL-4 (hIL-4R $\alpha$ ) описан в SEQ ID NO: 25. Антитела к hIL-4R $\alpha$  описаны в патентах США № 7605237 и 7608693. Внеклеточный домен hIL-4R $\alpha$  представлен последовательностью аминокислот SEQ ID NO: 26.

Термин "антитело", как используется в настоящем описании, обычно относится к молекулам иммуноглобулина, включающим четыре полипептидных цепи, две тяжелые (H) цепи и две легкие (L) цепи, связанные дисульфидными связями, а также их мультимерам (например, IgM); однако молекулы иммуноглобулина, состоящие только из тяжелых цепей (т.е. не имеющие легких цепей), также охватываются определением термина "антитело". Каждая тяжелая цепь включает переменный участок тяжелой цепи (сокращенный в данном описании как HCVR или V<sub>H</sub>) и постоянный участок тяжелой цепи. Постоянный участок тяжелой цепи включает три домена, CH1, CH2 и CH3. Каждая легкая цепь включает переменный участок легкой цепи (сокращенный в настоящем описании как LCVR или V<sub>L</sub>) и постоянный участок легкой цепи. Постоянный участок легкой цепи включает один домен (CL1). Участки V<sub>H</sub> и V<sub>L</sub> могут быть дополнительно подразделены на участки гипервариабельности, называемые участками, определяющими комплементарность (CDR), перемежающиеся участками, которые являются более консервативными, называемыми каркасными участками (FR). Каждый V<sub>H</sub> и V<sub>L</sub> состоит из трех CDR и четырех FR, расположенных с аминоконца к карбоксиконцу в следующем порядке: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4.

Если особым образом не указано иное, термин "антитело", как используется в настоящем описании, необходимо понимать как охватывающий полные молекулы антител, а также их антигенсвязывающие фрагменты. Термин "антигенсвязывающая часть" или "антигенсвязывающий фрагмент" антитела (или просто "часть антитела", или "фрагмент антитела"), как используется в настоящем описании, относится к одному или более фрагментам антитела, которые сохраняют способность специфически связываться с hIL-4R $\alpha$  или его эпитопом.

"Изолированное антитело", как используется в настоящем описании, предназначено для обозначения антитела, которое по существу свободно от других антител, имеющих различные антигенные специфичности (например, выделенное антитело, которое специфически связывается с hIL-4R $\alpha$ , является по существу свободным от антител, которые специфически связываются с антигенами, иными, чем hIL-4R $\alpha$ ).

Термин "специфически связывается" или подобные означает, что антитело или его антигенсвязывающий фрагмент образуют комплекс с антигеном, который является относительно стабильным в физиологических условиях. Специфическое связывание может быть охарактеризовано константой диссоциации по меньшей мере около  $1 \times 10^{-6}$  М или более. Способы определения, могут ли две молекулы специфически связываться, хорошо известны в данной области и включают, например, равновесный диализ, поверхностный плазмонный резонанс и подобные. Выделенное антитело, которое специфически связывается с hIL-4R $\alpha$ , может, однако, перекрестно взаимодействовать с другими антигенами, такими как молекулы IL-4R других видов (ортологи). В контексте настоящего изобретения мультиспецифические (например, биспецифические) антитела, которые связываются с hIL-4R $\alpha$ , а также с одним или более дополнительными антигенами, считаются "специфически связывающими" hIL-4R $\alpha$ . Более того, выделенное антитело может быть по существу свободным от других клеточных материалов или химических веществ.

Примеры анти-hIL-4R $\alpha$  антител, которые могут быть включены в фармацевтические композиции по настоящему изобретению, представлены в US 7605237 и US 7608693, описание которых включено посредством ссылки во всей их полноте.

В соответствии с определенными вариантами осуществления настоящего изобретения анти-hIL-4R $\alpha$  антитело представляет собой человеческий IgG1, включающий переменный участок тяжелой цепи, которым является подтип IGHV3-9, и переменный участок легкой цепи, которым является подтип IGKV2-28 (см. Barbie and Lefranc, *The Human Immunoglobulin Kappa Variable (IGKV) Genes and Joining (IGKJ) Segments*, Exp. Clin. Immunogenet. 1998; 15:171-183 и Scaviner, D. et al., *Protein Displays of the Human Immunoglobulin Heavy, Kappa and Lambda Variable and Joining Regions*, Exp. Clin. Immunogenet., 1999; 16:234-240).

В некоторых вариантах осуществления изобретения анти-hIL-4R $\alpha$  включает по меньшей мере одну замену аминокислоты, которая приводит к изменению заряда на выставленной поверхности антитела относительно исходной последовательности IGHV3-9 или исходной последовательности IGKV2-28. Исходные последовательности IGHV3-9 и IGKV2-28 и обозначения положений номеров аминокислот, представленных в настоящем описании, соответствуют международной информационной системе Immunogenetics (IMGT), как описано в Lefranc, M.-P., et al., IMGT®, *The International Immunogenetics Information System*®, Nucl. Acids Res, 37, D1006-D1012 (2009). В некоторых вариантах осуществления

изобретения поверхность, подвергаемая воздействию, включает участок, определяющий комплементарность (CDR). В некоторых вариантах осуществления изобретения замену или замены аминокислот выбирают из группы, состоящей из (а) основной аминокислоты, замененной нейтральной аминокислотой в рамках CDR2 (например, в положении 58) IGHV3-9, (b) нейтральной аминокислоты, замененной кислотой аминокислотой в рамках CDR3 (например, в положении 107) IGHV3-9, (с) нейтральной аминокислоты, замененной основной аминокислотой в рамках CDR1 (например, в положении 33) IGKV2-28. Уникальные перестановки в распределении заряда антитела, особенно на границе с окружающей средой (такой как, например, в CDR), ожидаемо создают непредсказуемые условия для стабильности антитела в растворе.

В некоторых вариантах осуществления изобретения анти-hIL-4R $\alpha$  антитело включает по меньшей мере одну замену аминокислот, которая создает изменение деформации скручивания в каркасном участке антитела относительно исходной последовательности IGHV3-9 или исходной последовательности IGKV2-28. В некоторых вариантах осуществления изобретения замену или замены аминокислот выбирают из группы, состоящей из (а) пролина, замененного непролиновой аминокислотой в каркасном участке 3 (FR3) (например, в положении 96) IGHV3-9, и (b) непролиновой аминокислоты, замененной пролином в каркасном участке 2 (FR2) (например, в положении 46) IGKV2-28. Изменения способности пептидной цепи вращаться, особенно в области каркасного участка, что влияет на взаимодействие CDR с растворителем, вероятно, могут создать непредсказуемые условия для стабильности антитела в растворе.

В соответствии с определенными вариантами осуществления настоящего изобретения анти-hIL-4R $\alpha$  антитела или их антигенсвязывающий фрагмент включают участок, определяющий комплементарность тяжелой цепи (HCDR) 1 SEQ ID NO: 2, HCDR2 SEQ ID NO: 3 и HCDR3 SEQ ID NO: 4. В определенных вариантах осуществления изобретения анти-hIL-4R $\alpha$  антитела или их антигенсвязывающий фрагмент включают HCVD SEQ ID NO: 1.

В соответствии с определенными вариантами осуществления настоящего изобретения анти-hIL-4R $\alpha$  или его антигенсвязывающий фрагмент включают участок, определяющий комплементарность легкой ( $\kappa$ ) цепи (LCDR) 1 SEQ ID NO: 6, LCDR2 SEQ ID NO: 7 и LCDR3 SEQ ID NO: 8. В определенных вариантах осуществления изобретения анти-hIL-4R $\alpha$  антитела или их антигенсвязывающие фрагменты включают LCVD SEQ ID NO: 5.

В соответствии с определенными другими вариантами осуществления настоящего изобретения анти-hIL-4R $\alpha$  антитела или их антигенсвязывающие фрагменты включают HCDR1 SEQ ID NO: 10, HCDR2 SEQ ID NO: 11, HCDR3 SEQ ID NO: 12, LCDR1 SEQ ID NO: 14, LCDR2 SEQ ID NO: 15 и LCDR3 SEQ ID NO: 16. В определенных вариантах осуществления изобретения анти-hIL-4R $\alpha$  антитела или их антигенсвязывающие фрагменты включают HCVD SEQ ID NO: 9 и LCVD SEQ ID NO: 13.

В соответствии с определенными другими вариантами осуществления настоящего изобретения анти-hIL-4R $\alpha$  антитела или их антигенсвязывающие фрагменты включают HCDR1 SEQ ID NO: 18, HCDR2 SEQ ID NO: 19, HCDR3 SEQ ID NO: 20, LCDR1 SEQ ID NO: 22, LCDR2 SEQ ID NO: 23 и LCDR3 SEQ ID NO: 24. В определенных вариантах осуществления изобретения анти-hIL-4R $\alpha$  антитела или их антигенсвязывающие фрагменты включают HCVD SEQ ID NO: 17 и LCVD SEQ ID NO: 21.

Неограничивающие примеры антител, используемых в примерах в настоящем описании, называют как "mAb1". Указанные антитела также представлены в US 7608693 как H4H098P. mAb1 (H4H098P) включает пару последовательностей аминокислот HCVR/LCVR, SEQ ID NO: 1/5, и HCDR1-HCDR2-HCDR3/LCDR1-LCDR2-LCDR3 домены, представленные SEQ ID NO: 2-3-4/SEQ ID NO: 6-7-8.

Другие неограничивающие примеры антител, которые могут быть использованы при осуществлении настоящего изобретения, называют как "mAb2". Указанные антитела также представлены в US 7608693 как H4H083P. mAb2 (H4H083P) включает пару последовательностей аминокислот HCVR/LCVR, имеющую SEQ ID NO: 9/13, и HCDR1-HCDR2-HCDR3/LCDR1-LCDR2-LCDR3 домены, представленные SEQ ID NO: 10-11-12/SEQ ID NO: 14-15-16.

Еще одним неограничивающим примером антитела, которое может быть использовано при осуществлении настоящего изобретения, является "mAb3". Указанное антитело также представлено в US 7608693 как H4H095P. mAb3 (H4H095P) включает пару последовательностей аминокислот HCVR/LCVR, имеющих SEQ ID NO: 17/21, и HCDR1-HCDR2-HCDR3/LCDR1-LCDR2-LCDR3 домены, представленные SEQ ID NO: 18-19-20/SEQ ID NO: 22-23-24.

Количество антител или их антигенсвязывающих фрагментов, содержащееся в фармацевтических композициях по настоящему изобретению, может варьироваться в зависимости от специфических желаемых свойств композиций, а также определенных обстоятельств и целей, для которых предназначено применение композиций. В определенных вариантах осуществления изобретения фармацевтические композиции являются жидкими композициями, которые могут содержать от около 100 $\pm$ 10 до около 200 $\pm$ 20 мг/мл антитела; от около 110 $\pm$ 11 до около 190 $\pm$ 19 мг/мл антитела; от около 120 $\pm$ 12 до около 180 $\pm$ 18 мг/мл антитела; от около 130 $\pm$ 13 мг/мл до около 170 $\pm$ 17 мг/мл антитела; от около 140 $\pm$ 14 до около 160 $\pm$ 16 мг/мл антитела; около 150 $\pm$ 15 мг/мл антитела. Например, композиции по настоящему изобретению могут включать около 90; около 95; около 100; около 105; около 110; около 115; около 120; около

125; около 130; около 131; около 132; около 133; около 134; около 135; около 140; около 145; около 150; около 155; около 160; около 165; около 170; около 175; около 180; около 185; около 190; около 195 или около 200 мг/мл антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, которые специфически связываются с hIL-4R $\alpha$ .

Экципиенты и pH.

Фармацевтические композиции по настоящему изобретению включают один или более эксципиентов. Термин "эксципиент", как используется в настоящем описании, означает любое нетерапевтическое средство, добавляемое к композиции для обеспечения желаемой консистенции, вязкости и стабилизирующего эффекта.

В определенных вариантах осуществления изобретения фармацевтическая композиция по изобретению содержит по меньшей мере один органический соразтворитель типа и в количестве, которое стабилизирует антитела hIL-4R $\alpha$  в условиях небрежного обращения, таких как, например, встряхивание. В некоторых вариантах осуществления изобретения под "стабилизирует" понимают предотвращение образования более чем 2% агрегированных антител от общего количества антител (на молярной основе) при небрежном обращении. В некоторых вариантах осуществления изобретения небрежным обращением является встряхивание раствора, содержащего антитела и органический соразтворитель, в течение около 120 мин.

В определенных вариантах осуществления изобретения органическим соразтворителем является неионное поверхностно-активное вещество, такое как алкилполи(этиленоксид). Специфические неионные поверхностно-активные вещества, которые могут быть включены в композиции по настоящему изобретению, включают, например, полисорбаты, такие как полисорбат 20, полисорбат 28, полисорбат 40, полисорбат 60, полисорбат 65, полисорбат 80, полисорбат 81 и полисорбат 85; полочкамеры, такие как полочкамер 181, полочкамер 188, полочкамер 407 или полиэтиленгликоль (PEG). Полисорбат 20 также известен как TWEEN 20, монолаурат сорбита и монолаурат полиоксиэтиленсорбита. Полочкамер 181 также известен как PLURONIC F68.

Количество органического соразтворителя, содержащегося в фармацевтических композициях по настоящему изобретению, может варьироваться в зависимости от специфических свойств, желаемых для композиций, а также от определенных обстоятельств и целей, для которых предназначено применение композиций. В определенных вариантах осуществления изобретения композиции могут содержать от около 0,1 $\pm$ 0,01 до около 2 $\pm$ 0,2% поверхностно-активного вещества. Например, композиции по настоящему изобретению могут включать около 0,09; около 0,10; около 0,11; около 0,12; около 0,13; около 0,14; около 0,15; около 0,16; около 0,17; около 0,18; около 0,19; около 0,20; около 0,21; около 0,22; около 0,23; около 0,24; около 0,25; около 0,26; около 0,27; около 0,28; около 0,29 или около 0,30% полисорбата 20 или полочкамера 181. Например, композиции по настоящему изобретению могут включать около 0,5; около 0,6; около 0,7; около 0,8; около 0,9; около 1; около 1,1; около 1,2; около 1,3; около 1,4; около 1,5; около 1,6; около 1,7; около 1,8; около 1,9 или около 2,0% PEG 3350.

Примеры органических соразтворителей, которые стабилизируют антитела hIL-4R $\alpha$ , включают 0,2 $\pm$ 0,02% полисорбата 20, 0,2 $\pm$ 0,02% полочкамера 181 или 1 $\pm$ 0,1% PEG 3350.

Фармацевтические композиции по настоящему изобретению также могут содержать один или более термических стабилизаторов типа и в количестве, которые стабилизируют антитела hIL-4R $\alpha$  в условиях термического стресса. В некоторых вариантах осуществления изобретения термин "стабилизирует" означает поддержание более чем около 92% антител в нативной конформации, когда раствор, содержащий антитела и термический стабилизатор, хранят при около 45°C в течение до около 28 дней. В некоторых вариантах осуществления изобретения "стабилизирует" означает, что менее чем около 5% антител агрегированы, когда раствор, содержащий антитела и термический стабилизатор, хранят при около 45°C в течение до около 28 дней.

В определенных вариантах осуществления изобретения термическим стабилизатором является сахар или сахарный спирт, выбранный из сахарозы, трегалозы и маннита или любой их комбинации, количество которых, содержащееся в композиции, может варьироваться в зависимости от специфических обстоятельств и предназначенного применения, для которого используется композиция. В определенных вариантах осуществления изобретения композиции могут содержать от около 2,5 до около 10% сахара или сахарного спирта; от около 3 до около 9,5% сахара или сахарного спирта; от около 3,5 до около 9% сахара или сахарного спирта; от около 4 до около 8,5% сахара или сахарного спирта; от около 4,5 до около 8% сахара или сахарного спирта; от около 5 до около 7,5% сахара или сахарного спирта; от около 5,5 до около 7% сахара или сахарного спирта или от около 6,0 до около 6,5% сахара или сахарного спирта. Например, фармацевтические композиции по настоящему изобретению могут включать около 2,5 $\pm$ 0,375%; около 3 $\pm$ 0,45%; около 3,5 $\pm$ 0,525%; около 4,0 $\pm$ 0,6%; около 4,5 $\pm$ 0,675%; около 5,0 $\pm$ 0,75%; около 5,5 $\pm$ 0,825%; около 6,0 $\pm$ 0,9%; около 6,5 $\pm$ 0,975%; около 7,0 $\pm$ 1,05%; около 7,5 $\pm$ 1,125%; около 8,0 $\pm$ 1,2%; 8,5 $\pm$ 1,275%; около 9,0 $\pm$ 1,35% или около 10,0 $\pm$ 1,5% сахара или сахарного спирта (например, сахарозы, трегалозы или маннита).

Фармацевтические композиции по настоящему изобретению также могут включать буфер или сис-

тему буферов, которые предназначены для поддержания стабильного рН и для улучшения стабильности hIL-4R $\alpha$  антител. В некоторых вариантах осуществления изобретения под "стабилизирует" понимают, что менее чем 3,0 $\pm$ 0,5% антител агрегируются, когда раствор, содержащий антитела и буфер, хранят при около 45 $^{\circ}$ C в течение до около 14 дней. В некоторых вариантах осуществления изобретения под "стабилизирует" понимают, что менее чем 3,7 $\pm$ 0,5% антител агрегированы, когда раствор, содержащий антитела и буфер, хранят при около 25 $^{\circ}$ C в течение около 6 месяцев. В некоторых вариантах осуществления изобретения под "стабилизирует" понимают, что по меньшей мере 95 $\pm$ 0,5% антител находится в их нативной конформации, что определяют эксклюзионной хроматографией, когда раствор, содержащий антитела и буфер, хранят при около 45 $^{\circ}$ C в течение до около 14 дней. В некоторых вариантах осуществления изобретения под "стабилизирует" понимают, что по меньшей мере 96 $\pm$ 0,5% антител находится в их нативном состоянии, что определяют эксклюзионной хроматографией, когда раствор, содержащий антитела и буфер, хранят при около 25 $^{\circ}$ C в течение до около 6 месяцев. В некоторых вариантах осуществления изобретения под "стабилизирует" понимают, что по меньшей мере 62 $\pm$ 0,5% антител находится в их нейтральной конформации, что определяют катионообменной хроматографией, когда раствор, содержащий антитела и буфер, хранят при около 45 $^{\circ}$ C в течение до около 14 дней. В некоторых вариантах осуществления изобретения под "стабилизирует" понимают, что по меньшей мере 54 $\pm$ 0,5% антител находится в их нейтральной конформации, что определяют катионообменной хроматографией, когда раствор, содержащий антитела и буфер, хранят при около 25 $^{\circ}$ C в течение до около 6 месяцев. Под "нейтральной конформацией", понимают фракцию антител, которая элюирует из ионообменной смолы в главном пике, который обычно ограничен более "щелочными" пиками с одной стороны и более "кислыми" пиками с другой стороны.

Фармацевтические композиции по настоящему изобретению могут иметь рН от около 5,2 до около 6,4. Например, композиции по настоящему изобретению могут иметь рН около 5,2; около 5,3; около 5,4; около 5,5; около 5,6; около 5,7; около 5,8; около 5,9; около 6,0; около 6,1; около 6,2; около 6,3 или около 6,4. В некоторых вариантах осуществления изобретения рН составляет около 5,3 $\pm$ 0,2; около 5,9 $\pm$ 0,2 или около 6,0 $\pm$ 0,2.

В некоторых вариантах осуществления изобретения буфер или система буферов включают по меньшей мере один буфер, который имеет буферный диапазон, который полностью или частично охватывает диапазон рН 5,2-6,4. В одном варианте осуществления изобретения буфер или система буферов включает два буфера, первый из которых имеет эффективный диапазон рН в пределах 3,6-5,6, и второй, который имеет эффективный диапазон рН в пределах 5,5-7,4. В одном варианте осуществления изобретения первый буфер имеет рКа около 4,8 $\pm$ 0,3, и второй буфер имеет рКа около 6,0 $\pm$ 0,3. В определенных вариантах осуществления изобретения система буферов включает ацетатный буфер и гистидиновый буфер. В определенных вариантах осуществления изобретения гистидин присутствует в количестве 1,3-1,9 частей на 1 часть ацетатного буфера по моль. В определенных вариантах осуществления изобретения гистидин присутствует в количестве около 1,6 $\pm$ 0,25 частей на 1 часть ацетата по моль. В определенных вариантах осуществления изобретения ацетат присутствует в концентрации от около 2,5 до около 22,5 мМ; от около 3,0 до около 22 мМ; от около 3,5 до около 21,5 мМ; от около 4,0 до около 21,0 мМ; от около 4,5 до около 20,5 мМ; от около 5,0 до около 20 мМ; от около 5,5 до около 19,5 мМ; от около 6,0 до около 19,0 мМ; от около 6,5 до около 18,5 мМ; от около 7,0 до около 18,0 мМ; от около 7,5 до около 17,5 мМ; от около 8,0 до около 17 мМ; от около 8,5 до около 16,5 мМ; от около 9,0 до около 16,0 мМ; от около 9,5 до около 15,5 мМ; от около 10,0 до около 15,0 мМ; от около 10,5 до около 14,5 мМ; от около 12,5 $\pm$ 1,875 мМ; от около 11,0 до около 14,0 мМ; от около 11,5 до около 13,5 мМ или от около 12,0 до около 13,0 мМ. В определенных вариантах осуществления изобретения гистидин присутствует в концентрации от около 10 до около 30 мМ; от около 11 до около 29 мМ; от около 12 до около 28 мМ; от около 13 до около 27 мМ; от около 14 до около 26 мМ; от около 15 до около 25 мМ; от около 16 до около 24 мМ; от около 17 до около 23 мМ; от около 18 до около 22 мМ или от около 19 до около 21 мМ. В определенных вариантах осуществления изобретения система буферов включает ацетат в количестве около 12,5 мМ и гистидин в количестве около 20 мМ, при рН около 5,9.

Фармацевтические композиции по настоящему изобретению также могут включать один или более эксципиентов, которые предназначены для поддержания пониженной вязкости или для снижения вязкости композиций, содержащих высокую концентрацию белка (например, обычно >100 мг/мл белка). В некоторых вариантах осуществления изобретения композиция включает аргинин в количестве, достаточном для поддержания вязкости жидкой композиции менее чем около 35 сП, менее чем около 30 сП, менее чем около 25 сП, менее чем около 20 сП, менее чем около 15 сП, менее чем около 14 сП, менее чем около 13 сП, менее чем около 12 сП, менее чем около 10 сП или менее чем около 9 сП.

В определенных вариантах осуществления изобретения фармацевтическая композиция по настоящему изобретению содержит аргинин, предпочтительно гидрохлорид L-аргинина, в концентрации около 25 $\pm$ 3,75 мМ, около 50 $\pm$ 7,5 мМ или около 100 $\pm$ 15 мМ. В определенных вариантах осуществления изобретения аргинин находится в количестве от около 20 до около 30 мМ, от около 21 до около 29 мМ, от около



21,25 до около 28,75 мМ, от около 22 до около 28 мМ, от около 23 до около 27 мМ или от около 24 до около 26 мМ.

#### Примеры композиций

В соответствии с одним аспектом настоящего изобретения фармацевтическая композиция представляет собой, как правило, физиологически изотоничную жидкую композицию с низкой вязкостью, которая содержит:

- (i) человеческие антитела, которые специфически связываются с hIL-4R $\alpha$  (например, mAb1, mAb2 или mAb3 [выше]), в концентрации около 100 мг/мл или более;
- (ii) систему буферов, которая обеспечивает достаточную буферность на уровне около 5,9 $\pm$ 0,6;
- (iii) сахар, который предназначен, между прочим, в качестве термического стабилизатора;
- (iv) органический соразтворитель, который защищает структурную целостность антител; и
- (v) аминокислоту, которая предназначена для поддержания вязкости, приемлемой для подкожной инъекции.

В соответствии с одним вариантом осуществления изобретения фармацевтическая композиция содержит:

- (i) человеческие антитела IgG1, которые специфически связываются с hIL-4R $\alpha$  и которые включают замещенный переменный участок тяжелой цепи типаIGHV3-9 и замещенный переменный участок легкой цепи типа IGLV2-28 (например, mAb1) в концентрации от около 100 до около 200 мг/мл;
- (ii) систему буферов, включающую ацетат и гистидин, которая эффективно поддерживает pH около 5,9 $\pm$ 0,6;
- (iii) сахарозу в качестве термического стабилизатора;
- (iv) полисорбат в качестве органического соразтворителя;
- (v) аргинин в качестве понизителя вязкости.

В соответствии с одним вариантом осуществления изобретения фармацевтическая композиция содержит:

- (i) человеческие антитела IgG1, которые специфически связываются с hIL-4R $\alpha$  и которые включают HCDR1 SEQ ID NO: 2, HCDR2 SEQ ID NO: 3, HCDR3 SEQ ID NO: 4, LCDR1 SEQ ID NO: 6, LCDR2 SEQ ID NO: 7 и LCDR3 SEQ ID NO: 8, в концентрации около 150 $\pm$ 25 мг/мл;
- (ii) ацетат в концентрации около 12,5 $\pm$ 1,9 мМ и гистидин в концентрации около 20 $\pm$ 3 мМ, которые эффективно забуферивают при pH около 5,9 $\pm$ 0,3;
- (iii) сахарозу в концентрации около 5 $\pm$ 0,75% мас./об.;
- (iv) полисорбат 20 в концентрации около 0,2 $\pm$ 0,03% мас./об.;
- (v) аргинин в виде гидрохлорида L-аргинина в концентрации около 25 $\pm$ 3,75 мМ.

Дополнительные неограничивающие примеры фармацевтических композиций, охватываемые настоящим изобретением, представлены далее в настоящем описании, включая рабочие примеры, представленные ниже.

Стабильность и вязкость фармацевтических композиций.

Фармацевтические композиции по настоящему изобретению обычно проявляют высокую стабильность. Термин "стабильный", как используется в настоящем описании в отношении фармацевтических композиций, означает, что антитела в фармацевтических композициях сохраняют приемлемую степень химической структуры или биологической функции после хранения в определенных условиях. Композиция может быть стабильной, даже если антитела, содержащиеся в ней, не сохраняют 100% своей химической структуры или биологической функции после хранения в течение определенного количества времени. В определенных обстоятельствах сохранение около 90, около 95, около 96, около 97, около 98 или около 99% структуры или функции антител после хранения в течение определенного количества времени может быть расценено как "стабильный".

Стабильность может быть измерена, между прочим, путем определения процента нативных антител, которые остаются в композиции после хранения в течение определенного количества времени при определенной температуре. Процент нативных антител может быть определен, между прочим, эксклюзионной хроматографией (например, эксклюзионной высокоэффективной жидкостной хроматографией [Э-ВЭЖХ]). "Приемлемая степень стабильности", как используется в настоящем описании, означает, что по меньшей мере 90% нативной формы антител может быть определено в композиции после хранения в течение определенного количества времени при заданной температуре. В определенных вариантах осуществления изобретения по меньшей мере около 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99 или 100% антител нативной формы может быть определено в композиции после хранения в течение определенного периода времени при определенной температуре. Определенным количеством времени, после которого измеряют стабильность, может быть по меньшей мере 2 недели, по меньшей мере 1 месяц, по меньшей мере 2 месяца, по меньшей мере 3 месяца, по меньшей мере 4 месяца, по меньшей мере 5 месяцев, по меньшей мере 6 месяцев, по меньшей мере 7 месяцев, по меньшей мере 8 месяцев, по меньшей мере 9 месяцев, по меньшей мере 10 месяцев, по меньшей мере 11 месяцев, по меньшей мере 12 месяцев, по меньшей мере 18 месяцев, по меньшей мере 24 месяцев или более. Определенной температурой, при которой можно

хранить фармацевтическую композицию при оценке стабильности, может быть любая температура от около -80 до около 45°C, например хранение при около -30, около -20, около 0, около 4-8, около 5, около 25 или около 45°C. Например, фармацевтическая композиция может быть расценена стабильной, если после 3 месяцев хранения при 5°C более чем около 90, 95, 96, 97 или 98% нативных антител определяются Э-ВЭЖХ. Фармацевтическая композиция также может быть расценена стабильной, если через 6 месяцев хранения при 5°C более чем около 90, 95, 96, 97 или 98% нативных антител определяются Э-ВЭЖХ. Фармацевтическая композиция также может быть расценена стабильной, если после 9 месяцев хранения при 5°C более чем около 90, 95, 96, 97 или 98% нативных антител определяются Э-ВЭЖХ. Фармацевтическая композиция также может быть расценена стабильной, если после 3 месяцев хранения при 25°C более чем около 90, 95, 96 или 97% нативных антител определяются Э-ВЭЖХ. Фармацевтическая композиция также может быть расценена стабильной, если после 6 месяцев хранения при 25°C более чем около 90, 95, 96 или 97% нативных антител определяются Э-ВЭЖХ. Фармацевтическая композиция также может быть расценена стабильной, если после 9 месяцев хранения при 25°C более чем около 90, 95, 96 или 97% нативных антител определяются Э-ВЭЖХ.

Стабильность может быть измерена, между прочим, путем определения процента антител, которые образуют агрегаты в композиции после хранения в течение определенного периода времени при определенной температуре, где стабильность обратно пропорциональна проценту образующегося агрегата. Процент агрегированных антител может быть определен, между прочим, эксклюзионной хроматографией (например, эксклюзионной высокоэффективной жидкостной хроматографией [Э-ВЭЖХ]).

"Приемлемая степень стабильности", как эту фразу используют в настоящем описании, означает, что не более 5% антител находятся в агрегированной форме, определяемой в композиции после хранения в течение определенного периода времени при заданной температуре. В определенных вариантах осуществления изобретения приемлемая степень стабильности означает, что не более примерно 5, 4, 3, 2, 1, 0,5 или 0,1% антител может быть определено в агрегате в композиции после хранения в течение определенного периода времени при заданной температуре. Определенное количество времени, после которого измеряют стабильность, может составлять по меньшей мере 2 недели, по меньшей мере 1 месяц, по меньшей мере 2 месяца, по меньшей мере 3 месяца, по меньшей мере 4 месяца, по меньшей мере 5 месяцев, по меньшей мере 6 месяцев, по меньшей мере 7 месяцев, по меньшей мере 8 месяцев, по меньшей мере 9 месяцев, по меньшей мере 10 месяцев, по меньшей мере 11 месяцев, по меньшей мере 12 месяцев, по меньшей мере 18 месяцев, по меньшей мере 24 месяца или более. Температурой, при которой может храниться фармацевтическая композиция при оценке стабильности, может быть любая температура от около -80 до около 45°C, например хранение при около -30, около -20, около 0, около 4-8, около 5, около 25 или около 45°C. Например, фармацевтическая композиция может быть расценена стабильной, если после 3 месяцев хранения при 5°C менее чем около 5, 4, 3, 2, 1, 0,5 или 0,1% антител определяют в агрегированной форме. Фармацевтическая композиция также может быть расценена стабильной, если после 6 месяцев хранения при 5°C менее чем около 5, 4, 3, 2, 1, 0,5 или 0,1% антител определяются в агрегированной форме. Фармацевтическая композиция также может быть расценена стабильной, если после 9 месяцев хранения при 5°C менее чем около 5, 4, 3, 2, 1, 0,5 или 0,1% антител определяются в агрегированной форме. Фармацевтическая композиция также может быть расценена стабильной, если после 3 месяцев хранения при 25°C менее чем около 5, 4, 3, 2, 1, 0,5 или 0,1% антител определяются в агрегированной форме.

Фармацевтическая композиция также может быть расценена стабильной, если после 6 месяцев хранения при 25°C менее чем около 5, 4, 3, 2, 1, 0,5 или 0,1% антител определяются в агрегированной форме. Фармацевтическая композиция также может быть расценена стабильной, если после 9 месяцев хранения при 25°C менее чем около 5, 4, 3, 2, 1, 0,5 или 0,1% антител определяются в агрегированной форме.

Стабильность может быть измерена, между прочим, путем определения процента антител, которые мигрируют в более кислую фракцию во время обмена ионов ("кислая форма") чем в главную фракцию антител ("нейтральная конформация"), где стабильность обратно пропорциональна фракции антител в кислой форме. Не желая быть связанными с теорией, деамидирование антител может вызывать формирование более отрицательно заряженного антитела и, следовательно, более кислого относительно недеамидированного антитела (см., например, Robinson, N., Protein Deamidation, PNAS, April 16, 2002, 99(8):5283-5288). Процент "подкисленного" или "деамидированного" антитела может быть определен, между прочим, ионообменной хроматографией (например, катионообменной высокоэффективной жидкостной хроматографией [КО-ВЭЖХ]).

"Приемлемая степень стабильности", как эта фраза используется в настоящем описании, означает, что не более 45% антител находится в композиции в более кислой форме после хранения в течение определенного периода времени при определенной температуре. В определенных вариантах осуществления изобретения приемлемая степень стабильности означает, что не более примерно 45, 40, 35, 30, 25, 20, 15, 10, 5, 4, 3, 2, 1, 0,5 или 0,1% антител могут быть определены в кислой форме в композиции после хранения в течение определенного периода времени при заданной температуре. Определенное количество времени, после которого измеряют стабильность, может составлять по меньшей мере 2 недели,

по меньшей мере 1 месяц, по меньшей мере 2 месяца, по меньшей мере 3 месяца, по меньшей мере 4 месяца, по меньшей мере 5 месяцев, по меньшей мере 6 месяцев, по меньшей мере 7 месяцев, по меньшей мере 8 месяцев, по меньшей мере 9 месяцев, по меньшей мере 10 месяцев, по меньшей мере 11 месяцев, по меньшей мере 12 месяцев, по меньшей мере 18 месяцев, по меньшей мере 24 месяца или более. Температурой, при которой фармацевтическая композиция может храниться при оценке стабильности, может быть любая температура от около -80 до около 45°C, например, хранение при около -30, около -20, около 0, около 4-8, около 5, около 25 или около 45°C. Например, фармацевтическая композиция может быть расценена стабильной, если после 3 месяцев хранения при 5°C, менее чем около 15, 14, 13, 12, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2, 1, 0,5 или 0,1% антител находится в более кислой форме. Фармацевтическая композиция также может быть расценена стабильной, если после 3 месяцев хранения при 25°C менее чем около 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2, 1, 0,5 или 0,1% антител находятся в более кислой форме. Фармацевтическая композиция также может быть расценена стабильной, если после 8 недель хранения при 45°C менее чем около 45, 40, 35, 30, 25, 20, 15, 10, 5, 4, 3, 2, 1, 0,5 или 0,1% антител находятся в более кислой форме. Фармацевтическая композиция также может быть расценена стабильной, если после 2 недель хранения при 40°C менее чем около 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2, 1, 0,5 или 0,1% антител могут быть определены в более кислой форме.

Другие способы могут быть использованы для оценки стабильности композиций по настоящему изобретению, такие как, например, дифференциальная сканирующая калориметрия (DSC) для определения термической стабильности, контролируемое перемешивание для определения механической стабильности и поглощение при около 350 или около 405 нм для определения мутности раствора. Например, композиция по настоящему изобретению может быть расценена стабильной, если после 6 или более месяцев хранения при температуре от 5 до около 25°C изменение ОП<sub>405</sub> композиции составляет менее чем около 0,05 (например, 0,04, 0,03, 0,02, 0,01 или менее) от ОП<sub>405</sub> композиции в нулевой момент времени.

Стабильность также может быть оценена путем измерения биологической активности или аффинности связывания антитела с его мишенью. Например, композиция по настоящему изобретению может быть расценена как стабильная, если после хранения, например, при 5, 25, 45°C и др., в течение определенного количества времени (например, от 1 до 12 месяцев) анти-IL-4R $\alpha$  антитела, содержащиеся в композиции, связываются с IL-4R $\alpha$  с аффинностью, которая составляет по меньшей мере 90, 95% или более аффинности связывания антител перед указанным хранением. Аффинность связывания может быть определена, например, ELISA или плазмонным резонансом. Биологическая активность может быть определена анализом активности IL-4R $\alpha$ , такого как, например, контакт клетки, которая экспрессирует IL-4R $\alpha$ , с композицией, содержащей анти-IL-4R $\alpha$  антитела. Связывание антител с такой клеткой может быть измерено непосредственно, например, с помощью FACS анализа. Альтернативно, нижележащая активность системы IL-4R $\alpha$  может быть измерена в присутствии антитела и агониста IL-4R $\alpha$  и сравнена с активностью системы IL-4R $\alpha$  в отсутствие антител. В некоторых вариантах осуществления изобретения IL-4R $\alpha$  может быть эндогенным для клетки. В других вариантах осуществления изобретения IL-4R $\alpha$  может эктопически экспрессироваться в клетке.

Дополнительные способы оценки стабильности антител в композиции продемонстрированы в примерах, представленных ниже.

Жидкие фармацевтические композиции по настоящему изобретению могут в определенных вариантах осуществления изобретения проявлять вязкость от низкой до умеренной. "Вязкость", как используется в настоящем описании, может быть "кинематической вязкостью" или "абсолютной вязкостью". "Кинематическая вязкость" представляет собой меру резистивного потока жидкости под влиянием гравитации. Когда две жидкости равного объема помещают в идентичные капиллярные вискозиметры и позволяют течь под действием гравитации, причем для протекания через капилляр вязкой жидкости требуется больше времени, чем менее вязкой. Например, если для одной жидкости завершение тока занимает 200 с и для другой жидкости занимает 400 с, вторая жидкость является в два раза более вязкой, чем первая по шкале кинематической вязкости. "Абсолютная вязкость", иногда называемая динамической или простой вязкостью, является продуктом кинематической вязкости и плотности жидкости (Абсолютная вязкость=Кинематическая вязкость×Плотность).

Измерением кинематической вязкости является  $L^2/T$ , где L представляет собой длину и T представляет собой время. Обычно кинематическую вязкость выражают в сантистоксах (сСт). Единица СИ кинематической вязкости представляет собой мм<sup>2</sup>/с, что составляет 1 сСт. Абсолютную вязкость выражают в единицах сантипуаз (сП). Единица СИ абсолютной вязкости является миллиПаскаль-секунду (мПа·с), где 1 сП=1 мПа·с.

Как используется в настоящем описании, низкий уровень вязкости в отношении жидкой композиции по настоящему изобретению означает абсолютную вязкость менее чем около 15 сП. Например, жидкая композиция по изобретению расценивается как имеющая "низкую вязкость", если при измерении с использованием стандартных методик измерения вязкости, композиция проявляет абсолютную вязкость

около 15 сП, около 14 сП, около 13 сП, около 12 сП, около 11 сП, около 10 сП, около 9 сП, около 8 сП или менее. Как используется в настоящем описании, умеренный уровень вязкости, в отношении жидкой композиции по настоящему изобретению, означает абсолютную вязкость от около 35 до около 15 сП. Например, жидкая композиция по изобретению расценивается как имеющая "умеренную вязкость", если при измерении с использованием стандартных методик измерения вязкости, композиция проявляет абсолютную вязкость около 34 сП, около 33 сП, около 32 сП, около 31 сП, около 30 сП, около 29 сП, около 28 сП, около 27 сП, около 26 сП, около 25 сП, около 24 сП, около 23 сП, около 22 сП, около 21 сП, около 20 сП, около 19 сП, около 18 сП, около 17 сП, около 16 сП или около 15,1 сП.

Как проиллюстрировано в примерах ниже, авторы настоящего изобретения неожиданно обнаружили, что жидкие композиции с вязкостью от низкой до умеренной, включающие высокие концентрации анти-hIL-4R $\alpha$  антител (например, от около 100 до по меньшей мере 200 мг/мл), могут быть получены путем составления в композиции антител с аргинином от около 25 до около 100 мМ.

Кроме того, дополнительно было обнаружено, что вязкость композиции может быть снижена даже в большей степени путем регуляции содержания сахарозы до менее чем около 10%.

Контейнеры для фармацевтических композиций и способы введения.

Фармацевтические композиции по настоящему изобретению могут содержаться в любом контейнере, подходящем для хранения лекарственных препаратов и других терапевтических композиций. Например, фармацевтические композиции могут содержаться в герметичном и стерилизованном пластиковом или стеклянном контейнере, имеющем определенный объем, такой как флакон, ампула, шприц, картридж или бутылка. Различные типы флаконов могут быть использованы для содержания композиций по настоящему изобретению, включая, например, прозрачные и непрозрачные (например, янтарные) стеклянные или пластиковые флаконы. Также любой тип шприцов может быть использован для содержания или введения фармацевтических композиций по настоящему изобретению.

Фармацевтические композиции по настоящему изобретению могут содержаться в "нормально-вольфрамовых" шприцах или "низковольфрамовых" шприцах. Как будет понятно специалисту в данной области, способ получения стеклянных шприцев обычно включает применение горячего вольфрамового стержня, который действует, прокалывая флакон, создавая при этом отверстие, из которого жидкость может быть получена и вытолкнута из шприца. Указанный способ приводит к отложению следовых количеств вольфрама на внутренней поверхности шприца. Последующая промывка и другие стадии обработки могут быть использованы для уменьшения количества вольфрама в шприце. Как используется в настоящем описании, термин "нормальновольфрамовый" означает, что шприц содержит более чем 500 частей на миллиард (ч./млрд) вольфрама. Термин "низковольфрамовый" означает, что шприц содержит менее чем 500 ч./млрд вольфрама. Например, низковольфрамовый шприц в соответствии с настоящим изобретением может содержать менее чем около 490, 480, 470, 460, 450, 440, 430, 420, 410, 390, 350, 300, 250, 200, 150, 100, 90, 80, 70, 60, 50, 40, 30, 20, 10 или меньше ч./млрд вольфрама.

Резиновые поршни, используемые в шприцах, и резиновые пробки, используемые для закрытия отверстий флаконов, могут быть покрыты оболочкой для предотвращения контаминации медицинского содержимого шприца или флакона, или для сохранения их стабильности. Следовательно, фармацевтические композиции по настоящему изобретению в соответствии с определенными вариантами осуществления изобретения могут содержаться в шприце, который включает покрытый оболочкой поршень, или во флаконе, который закрыт покрытой оболочкой резиновой пробкой. Например, поршень или пробка могут быть покрыты фторуглеродной пленкой. Примеры покрытых оболочкой пробок или поршней, подходящих для применения с флаконами и шприцами, содержащими фармацевтические композиции по настоящему изобретению, приведены, например, в патентах США № 4997423; 5908686; 6286699; 6645635 и 7226554, содержание которых включено посредством ссылки в настоящее описание во всей их полноте. Определенные примерные покрытые оболочкой резиновые пробки и поршни, которые могут быть использованы в контексте настоящего изобретения, коммерчески доступны под торговым названием "FluoroTec®", доступные от West Pharmaceutical Services, Inc. (Lionville, PA).

В соответствии с определенными вариантами осуществления настоящего изобретения фармацевтические композиции могут содержаться в низковольфрамовом шприце, который включает поршень, покрытый фторуглеродом.

Фармацевтические композиции можно вводить пациенту парентеральными путями, такими как инъекция (например, подкожная, внутривенная, внутримышечная, интраперитонеальная и др.) или чрескожным, чрезслизистым, назальным, легочным или пероральным путем. Множество ручек многоразового использования или автоинъекционных устройств для введения могут быть использованы для подкожной доставки фармацевтических композиций по настоящему изобретению. Примеры включают, но не ограничиваются ими, AUTOPEN™ (Owen Mumford, Inc., Woodstock, UK), ручку DISETRONIC™ (Disetronic Medical Systems, Bergdorf, Switzerland), ручку HUMALOG MIX 75/25™, ручка HUMALOG™, ручку HUMALI N 70/30™ (Eli Lilly and Co., Indianapolis, IN), NOVOPEN™ I, II и III (Novo Nordisk, Copenhagen, Denmark), NOVOPEN JUNIOR™ (Novo Nordisk, Copenhagen, Denmark), ручка BD™ (Becton Dickinson, Franklin Lakes, NJ), OPTIPEN™, OPTIPEN PRO™, OPTIPEN STARLET™ и OPTICLIK™

(sanofi-aventis, Frankfurt, Germany). Примеры ручек многократного использования или автоинъекционных устройств для введения, имеющих применение в подкожной доставке фармацевтической композиции по настоящему изобретению, включают, но не ограничиваются ими, ручку SOLOSTAR™ (sanofi-aventis), FLEXPEN™ (Novo Nordisk) и KWIKPEN™ (Eli Lilly), SURECLICK™ Autoinjector (Amgen, Thousand Oaks, CA), PENLET™ (Haselmeier, Stuttgart, Germany), EPIPEN (Dey, L.P.) и ручку HUMIRA™ (Abbott Labs, Abbott Park, IL).

Применение микроинфузора для введения фармацевтических композиций по настоящему изобретению также предусматривается в настоящем описании. Как используется в настоящем описании, термин "микроинфузор" означает устройство для подкожного введения, созданное для медленного введения больших объемов (например, до около 2,5 мл или более) терапевтической композиции в течение длительного периода времени (например, около 10, 15, 20, 25, 30 мин или более). См., например, U.S. 6629949; US 6659982 и Meehan et al., J. Controlled Release, 46:107-116 (1996). Микроинфузоры являются особенно подходящими для введения больших доз терапевтических белков, содержащихся в высокой концентрации (например, около 100, 125, 150, 175, 200 мг/мл или более) или вязких растворов.

В одном варианте осуществления изобретения жидкую фармацевтическую композицию, содержащую около 150±15 мг/мл анти-IL-4Rα антитела, вводят подкожно в объеме приблизительно 1±0,15 мл из заранее заполненного шприца в автоинжекторе. В другом варианте осуществления изобретения композицию вводят в объеме от около 1 до 2,5 мл из микроинфузорного устройства. Композиция может быть заранее заполнена в мешок или картридж для применения в микроинфузоре.

Терапевтическое применение фармацевтических композиций.

Фармацевтические композиции по настоящему изобретению являются применимыми, между прочим, для лечения, профилактики или облегчения любого заболевания или расстройства, ассоциированного с активностью IL-4, включая заболевания или расстройства, опосредованные активацией IL-4Rα. Примеры неограничивающих заболеваний и расстройств, которые можно лечить или предотвратить путем введения фармацевтических композиций по настоящему изобретению, включают различные atopические заболевания, такие как, например, atopический дерматит, аллергический конъюнктивит, аллергический ринит, астма и другие заболевания, опосредованные IgE/Th2.

Следовательно, настоящее изобретение включает способы лечения, профилактики или облегчения любого заболевания или расстройства, ассоциированного с активностью IL-4 или активацией IL-4Rα (включая любое из приведенных выше примеров заболеваний, расстройств и состояний). Терапевтические способы по настоящему изобретению включают введение пациенту любой композиции, содержащей анти-hIL-4Rα антитела, как описано в настоящем документе. Пациентом, которому вводят фармацевтическую композицию, может быть, например, любой человек или животное, не являющееся человеком, которое нуждается в таком лечении, профилактике или облегчении или которое может иным образом получить пользу от ингибирования или подавления активности, опосредованной IL-4 или IL-4Rα. Например, пациентом может быть индивидуум, у которого диагностирован или который, вероятно, имеет риск развития любого из приведенных выше заболеваний или расстройств. Настоящее изобретение дополнительно включает применение любой из фармацевтических композиций, описанных в настоящем описании, в производстве лекарственного препарата для лечения, профилактики или облегчения любого заболевания или расстройства, ассоциированного с активностью IL-4 или активацией IL-4Rα (включая любое из приведенных выше примеров заболеваний, расстройств и состояний).

### Примеры

Следующие примеры представлены для обеспечения обычного специалиста в данной области полной информацией и описанием, как получать и применять способы и композиции по изобретению, и не предназначены для ограничения объема, которым авторы оценивают свое изобретение. Производились попытки обеспечить точность относительно используемых цифр (например, количества, температура и др.), но некоторые экспериментальные ошибки и отклонения необходимо принимать во внимание. Если не указано иное, части представляют собой молярные части, молекулярная масса представляет собой среднюю молекулярную массу, температура представлена в градусах по Цельсию и давление представлено в или около атмосферном давлении.

Опытные работы относительно исходной композиции включали скрининг органических соразтворителей, термических стабилизаторов и буферов в жидких композициях mAb1 (анти-IL-4Rα антитела по изобретению), чтобы определить эксципиенты, которые совместимы с белком и улучшают его стабильность, при сохранении осмолярности и вязкости для подкожной инъекции. Буферные условия также исследовали для определения оптимального pH для максимальной стабильности белка.

Пример 1. Органические соразтворители.

Наблюдали, что mAb1 являются нестабильными при воздействии стресса взбалтывания. Анализы высокоэффективной жидкостной хроматографией с обращенной фазой (ОФ-ВЭЖХ) и эксклюзионной высокоэффективной жидкостной хроматографией (Э-ВЭЖХ) продемонстрировали потерю белка и увеличение агрегатов белка, когда mAb1 встряхивали при комнатной температуре (табл. 1, см. данные "отсутствие соразтворителя"). Добавление органических соразтворителей к раствору mAb1 предотвращало

разложение белка, что измеряли Э-ВЭЖХ и ОФ-ВЭЖХ (табл. 1). Однако наблюдали, что добавление некоторых органических соразтворителей снижает термическую стабильность mAb1 (табл. 2). Потерю восстановления белка наблюдали в композициях, содержащих PEG 3350 (3%) и PEG 300 (10 и 20%), что определяли ОФ-ВЭЖХ после термического стресса (табл. 2). Кроме того, имело место большее образование агрегатов в композициях, содержащих PLURONIC F68 (полоксамер 181) (0,2%), PEG 300 (10 и 20%) и пропиленгликоль (20%), чем в композициях без соразтворителя, что определяли Э-ВЭЖХ. Полисорбат 20 (0,2%) и полисорбат 80 (0,2%) обеспечивали сравнимую стабильность к встряхиванию и термическому стрессу.

Согласно табл. 1 0,3 мл 15 мг/мл mAb1 в 10 мМ фосфата, pH 6,0 и различные органические соразтворители в 2 мл стеклянном флаконе подвергали встряхиванию в течение около 120 мин. Мутность оценивали посредством оптической плотности (ОП) при 405 нм и представляли как относительное изменение ОП при 405 нм по сравнению с исходным веществом. Процент общего восстановленного mAb1 определяли ВЭЖХ с обращенной фазой (ОФ-ВЭЖХ). Процент нативных и агрегированных mAb1 определяли эксклюзионной ВЭЖХ (Э-ВЭЖХ). Результаты Э-ВЭЖХ, представленные в результатах "исходное вещество", представляют собой среднее значение каждой композиции в отсутствии встряхивания.

Таблица 1

Органический соразтворитель	Внешний вид	Мутность	pH	Общий % mAb1 (ОФ-ВЭЖХ)	% нативных mAb1 (ВР-ВЭЖХ)	% агрегата mAb1 (ВР-ВЭЖХ)
Исходное вещество <sup>2</sup> (отсутствие встряхивания)	Удовл.	0,00	6,0	100	96,8	1,8
Отсутствие соразтворителя	Неуд.	0,87	6,0	86	95,8	3,5
0,2% полисорбат 20	Удовл.	0,01	5,9	98	97,0	1,7
0,2% полисорбат 80	Удовл.	0,00	5,9	100	96,6	2,0
0,2% плуроник F68	Удовл.	0,00	5,9	99	96,9	1,7
3% PEG 3350	Удовл.	0,00	6,0	102	96,7	2,0
1% PEG 3350	Удовл.	0,01	6,0	99	96,8	1,8
20% PEG 300	Удовл.	0,01	5,9	101	96,1	2,6
10% PEG 300	Удовл.	0,01	6,0	100	96,7	2,0
20% пропиленгликоль	Удовл.	0,00	6,0	101	96,7	2,0

Согласно табл. 2 0,3 мл 15 мг/мл mAb1 в 10 мМ фосфата, pH 6,0 и различные органические соразтворители в 2 мл стеклянном флаконе хранили при около 45°C в течение около 28 дней. Мутность оценивали по оптической плотности (ОП) при 405 нм и сообщали как относительное изменение ОП при 405 нм по сравнению с исходным веществом. Процент всех восстановленных mAb1 определяли ВЭЖХ с обращенной фазой (ОФ-ВЭЖХ). Процент нативных и агрегированных mAb1 определяли эксклюзионной ВЭЖХ (Э-ВЭЖХ). Результаты Э-ВЭЖХ, представленные в результатах "исходного вещества", представляют собой среднее из значений каждой композиции в отсутствие термического стресса.

Таблица 2

Органический соразтворитель	Внешний вид	Мутность	pH	Общий % mAb1 (ОФ-ВЭЖХ)	% нативных mAb1 (ВР-ВЭЖХ)	% агрегата mAb1 (ВР-ВЭЖХ)
Исходное вещество (отсутствие ускорения)	Удовл.	0,00	6,0	100	96,8	1,8
Отсутствие соразтворителя	Удовл.	0,00	6,2	98	94,9	3,5
0,2% полисорбат 20	Удовл.	0,00	6,3	98	94,6	3,6
0,2% полисорбат 80	Удовл.	0,00	6,2	97	94,3	3,8
0,2% плюроник F68	Удовл.	0,00	6,2	96	93,0	5,1
3% PEG 3350	Удовл.	0,00	6,2	73	96,5	1,4
1% PEG 3350	Удовл.	0,01	6,0	97	94,6	3,8
20% PEG 300	Удовл.	0,04	4,5	74	8,5	87,5
10% PEG 300	Удовл.	0,02	4,8	93	57,7	38,1
20% пропиленгликоль	Удовл.	0,00	6,3	97	93,6	4,7

#### Пример 2. Термические стабилизаторы.

Различные термические стабилизаторы, такие как сахара, аминокислоты и неорганические соли, исследовали в отношении их способности ингибировать деградацию mAb1 при хранении при около 45°C. Резюме исследуемых термических стабилизаторов представлено в табл. 3. Композиции, содержащие или сахарозу, или трегалозу, оказывали наибольший стабилизирующий эффект на mAb1 в растворе при инкубации при повышенной температуре (что определяли по Э-ВЭЖХ). Сахарозу выбирали в качестве стабилизатора, так как она имеет историю безопасного применения в композициях моноклональных антител.

Согласно табл. 3 0,3 мл 25 мг/мл mAb1 в 10 мМ ацетата, pH 5,3 и различные термические стабилизаторы в 2 мл стеклянном флаконе хранили при около 45°C в течение около 28 дней. Мутность оценивали по оптической плотности (ОП) при 405 нм и сообщали как относительное изменение ОП при 405 нм по сравнению с исходным веществом. Мутность была незначительной для всех образцов. Процент всех восстановленных mAb1 определяли ВЭЖХ с обращенной фазой (ОФ-ВЭЖХ). Процент нативных и агрегированных mAb1 определяли эксклюзионной ВЭЖХ (Э-ВЭЖХ). Кислые и основные виды определяли как сумму пиков mAb1, которые элюируют из катионообменной колонки (КО-ВЭЖХ) с более ранним или более поздним временем удерживания, чем основной пик, соответственно. Результаты Э-ВЭЖХ, представленные в результатах "исходного вещества", представляют собой среднее из значений каждой композиции в отсутствие термического стресса.

Таблица 3

Буфер и рН	рН	Общий % mAb1 (ОФ-ВЭЖХ)	% нативных mAb1 (Э-ВЭЖХ)	% агрегата mAb1 (Э-ВЭЖХ)	% mAb2 (КО-ВЭЖХ)		
					Кислый пик	Главный пик	Щелочной пик
Исходное вещество (отсутствие инкубации при 45°C)	5,3	100	97,8	1,2	17,6	68,2	13,2
Отсутствие термического стабилизатора	5,4	106	91,9	5,8	28,1	56,5	15,4
8,5% сахараза	5,4	105	93,3	4,6	29,5	54,7	15,8
4,5% сорбит	5,3	105	91,2	6,6	34,4	51,5	14,1
4,5% маннит	5,3	104	92,6	5,2	28,4	56,0	15,6
9,4% дигидрат трегалозы	5,4	103	93,4	4,5	29,1	55,6	15,3
2,2% глицин	5,4	104	86,6	10,6	33,5	50,7	15,8
0,9% NaCl	5,4	98	85,0	8,7	25,2	56,0	18,7
2,5% глицерин	5,4	104	91,9	6,0	29,7	56,1	14,3
5% аргинин	5,4	97	83,2	11,4	25,3	57,1	17,6

#### Пример 3. Буферы и рН.

Также исследовали эффект рН и вариантов буферов на стабильность mAb1. 15 мг/мл mAb1 инкубировали в различных буферах при различных значениях рН, варьирующихся от рН 4,5 до 7,0. Стабильность белка отслеживали Э-ВЭЖХ и катионообменной ВЭЖХ (КО-ВЭЖХ). Максимальную стабильность белка наблюдали, что определяли как по Э-ВЭЖХ, так и КО-ВЭЖХ, когда mAb1 составляли при рН 6,0 в гистидиновом буфере или при рН 5,3 в ацетатном буфере (табл. 4 и 5). Система ацетатного буфера обеспечивала более широкий диапазон стабильности рН и более низкую скорость изменений вариантов композиции относительно композиции, содержащей гистидиновый буфер (табл. 5). Следовательно, ацетатный буфер при рН 5,3 выбирали отчасти для составления лекарственного вещества mAb1.

Согласно табл. 4 0,3 мл 15 мг/мл mAb1, 0,2% полисорбата 20 смешивали с 10 мМ различных буферов в 2 мл стеклянном флаконе, хранили при около 45°C в течение около 14 дней. Мутность оценивали по оптической плотности (ОП) при 405 нм и сообщали как относительное изменение ОП при 405 нм по сравнению с исходным веществом. Мутность была незначительной для всех образцов. Процент всех восстановленных mAb1 определяли ВЭЖХ с обращенной фазой (ОФ-ВЭЖХ). Процент нативных и агрегированных mAb1 определяли эксклюзионной ВЭЖХ (Э-ВЭЖХ). Кислые и основные виды определяли как сумму пиков mAb1, которые элюируют из катионообменной колонки (КО-ВЭЖХ) с более ранним или более поздним временем удерживания, чем основной пик, соответственно. Результаты Э-ВЭЖХ, представленные в результатах "исходного вещества", представляют собой среднее из значений каждой композиции в отсутствие термического стресса.



Таблица 4

Буфер и pH	Общий % восстановленных mAb1 (ОФ-ВЭЖХ)	% нативных восстановленных mAb1 (Э-ВЭЖХ)	% агрегата восстановленных mAb1 (Э-ВЭЖХ)	% восстановленных <sup>2</sup> mAb1 (КО-ВЭЖХ)		
				Кислый пик	Главный пик	Щелочной пик
Исходное вещество <sup>3</sup> (отсутствие инкубации при 45°C)	100	96,8	1,7	19,1	66,4	14,5
pH 7,0, фосфат	97	93,9	4,5	39,1	50,1	10,8
pH 6,5, фосфат	96	94,4	4,0	31,7	55,9	12,5
pH 6,0, фосфат	99	95,2	3,1	23,8	62,2	14,0
pH 6,0, гистидин	97	95,5	2,8	23,9	61,8	14,3
pH 6,0, сукцинат	99	94,8	3,5	26,7	59,6	13,7
pH 6,0, цитрат	98	95,5	2,9	26,1	59,8	14,1
pH 5,5, цитрат	96	94,7	3,4	25,0	60,9	14,2
pH 5,0, цитрат	97	89,5	7,4	23,6	61,5	15,0
pH 5,0, ацетат	94	94,7	3,6	18,1	66,3	15,5
pH 4,5, ацетат	94	89,9	8,3	20,8	62,8	16,4

Согласно табл. 5 0,3 мл 15 мг/мл mAb1, 0,2% полисорбата 20, комбинированные с 10 мМ различных буферов в 2 мл стеклянном флаконе, хранили при около 45°C в течение около 14 дней. Мутность оценивали по оптической плотности (ОП) при 405 нм и сообщали как относительное изменение ОП при 405 нм по сравнению с исходным веществом. Мутность была незначительной для всех образцов. Процент всех восстановленных mAb1 определяли ВЭЖХ с обращенной фазой (ОФ-ВЭЖХ). Процент нативных и агрегированных mAb1 определяли эксклюзионной ВЭЖХ (Э-ВЭЖХ). Кислые и основные виды определяли как сумму пиков mAb1, которые элюируют из катионообменной колонки (КО-ВЭЖХ) с более ранним или более поздним временем удерживания, чем главный пик, соответственно. Результаты Э-ВЭЖХ, представленные в результатах "исходного вещества", представляют собой среднее из значений каждой композиции в отсутствие термического стресса.

Исследования по разработке композиции показали, что в щелочных условиях (pH≥6,5), mAb1 в растворе могут деамидироваться. Наоборот, ниже pH 5,0 наблюдали увеличение скорости образования вариантов молекулярной массы mAb1. На основании полученных данных pH композиции mAb1 поддерживали от 5,6 до 6,2. mAb1 были стабильными в указанном диапазоне pH.

Таблица 5

Буфер и pH	Общий % восстановленных mAb1 (ОФ-ВЭЖХ)	% нативных восстановленных mAb1 (Э-ВЭЖХ)	% агрегата восстановленных mAb1 (Э-ВЭЖХ)	% нативных восстановленных mAb1 (КО-ВЭЖХ)		
				Кислый пик	Главный пик	Щелочной пик
Исходное вещество <sup>3</sup> (отсутствие инкубации при 45°C)	100	96,5	2,1	18,7	66,7	14,6
pH 5,5, гистидин	94	87,5	9,1	22,7	58,7	18,6
pH 6,0, гистидин	100	96,6	2,4	22,7	63,0	14,2
pH 6,5, гистидин	97	89,8	7,7	32,1	43,8	24,0
pH 4,7, ацетат	90	90,1	6,4	18,4	66,1	15,5
pH 5,0, ацетат	100	93,7	4,3	18,0	67,0	15,0
pH 5,3, ацетат	99	95,2	3,0	18,1	67,5	14,5
pH 5,6, ацетат	100	93,6	5,3	22,1	61,7	14,3

Эффект pH и вариантов буферов на стабильность mAb1 дополнительно оценивали в композициях, содержащих или 20 мМ гистидина pH 6, 12,5 мМ ацетата pH 5,3, или комбинацию 20 мМ гистидина и 12,5 мМ ацетата pH 5,9 (табл. 6). По сравнению с системой отдельных буферов mAb1 были наиболее стабильными в композиции, содержащей как гистидин, так и ацетат приблизительно при pH 5,9. Самую медленную скорость агрегации определяли, когда mAb1 составляли в указанной комбинированной системе буферов (Э-ВЭЖХ) (табл. 6).

Таблица 6

Буфер и pH	Общий % восстановленных mAb1 (ОФ-ВЭЖХ)	% нативных восстановленных mAb1 (Э-ВЭЖХ)	% агрегата восстановленных mAb1 (Э-ВЭЖХ)	% восстановленных <sup>2</sup> mAb1 (КО-ВЭЖХ)		
				Кислый пик	Главный пик	Щелочной пик
Исходное вещество (отсутствие инкубации при 45°C)	100	97,0	2,6	27,4	62,1	10,5
20 мМ гистидин, pH 5,9	100	95,2	4,3	34,8	53,9	11,4
12,5 мМ ацетат, pH 5,3	103	94,8	4,8	30,9	56,0	13,1
Комбинация 20 мМ гистидина и 12,5 мМ ацетата, pH 5,9	104	95,9	3,7	33,7	54,1	12,1

Согласно табл. 6 0,4 мл 150 мг/мл mAb1, 10% сахарозы, 0,2% полисорбата 20, комбинированные с различными буферами в 2 мл стеклянном флаконе хранили при около 45°C в течение около 14 дней. Мутность оценивали по оптической плотности (ОП) при 405 нм и сообщали как относительное изменение ОП при 405 нм по сравнению с исходным веществом. Мутность была незначительной для всех образцов. Процент всех восстановленных mAb1 определяли ВЭЖХ с обращенной фазой (ОФ-ВЭЖХ). Процент нативных и агрегированных mAb1 определяли эксклюзионной ВЭЖХ (Э-ВЭЖХ). Кислые и основные виды определяли как сумму пиков mAb1, которые элюируют из катионообменной колонки (КО-ВЭЖХ) с более ранним или более поздним временем удерживания, чем основной пик, соответственно. Результаты Э-ВЭЖХ, представленные в результатах "исходного вещества", представляют собой среднее из значений каждой композиции в отсутствие термического стресса.

Пример 4. Управление вязкостью и тоничностью.

Комбинации различных эксципиентов с высокими концентрациями mAb1 (т.е. 150, 175 и 200 мг/мл) оценивали в отношении вязкости и тоничности (выраженной в осмолярности). Уровень сахарозы, хлорида натрия и гидрохлорида L-аргинина регулировали для получения композиции, содержащей высокую концентрацию mAb1 при низкой вязкости и при физиологической тоничности для возможности легкого, удобного и быстрого подкожного введения большого количества mAb1 (табл. 7). Жидкая композиция, содержащая 25 мМ аргинина, 20 мМ гистидина, 12,5 мМ ацетата, 5% (мас./об.) сахарозы, 0,2% (мас./об.) полисорбата 20 и 150 мг/мл mAb1, при pH 5,9 (композиция А) представляет собой оптимизированную композицию, имеющую низкую вязкость (около 8,5 сП) и являющуюся физиологически изотоничной (около 293 мОсм/кг), при сохранении стабильности mAb1.

Таблица 7

	mAb1 (мг/мл)	Гистидин (мМ)	Ацетат (мМ)	Аргинин (мМ)	NaCl (мМ)	Сахароза (% масс/об)	pH	Вязкость (сПуаз)	Осмолярность (мОсм/кг)
A	150	20	12,5	25	0	5	5,9	8,5	293
B	150	20	12,5	0	0	10	5,9	11	448
C	175	20	12,5	100	0	1	5,9	-8,0	-290
D	175	20	12,5	50	0	5	5,9	-9,5	-370
E	175	20	12,5	0	0	10	5,9	-20	-440
F	200	20	12,5	100	0	1	5,9	-15	-290
G	200	20	12,5	0	100	5	5,9	-19,2	-430
H	200	20	12,5	100	0	5	5,9	-17	-430
I	200	20	12,5	50	0	5	5,9	-18	-330
J	200	20	12,5	25	0	5	5,9	-23	-290
K	200	20	12,5	0	0	10	5,9	-35	-440

Пример 5. Характеризация композиции А.

Основными путями разрушения, идентифицированными во время разработки жидкой композиции mAb1, были образование агрегатов, продуктов расщепления и вариантов заряда. Образование таких продуктов разрушения минимизировали путем составления mAb1 в композиции, содержащей 20 мМ гисти-

дина, 12,5 мМ ацетата, 0,2% полисорбата 20, 5% сахарозы и 25 мМ гидрохлорида L-аргинина, при pH 5,9. Наблюдали, что составленные в композицию 150 мг/мл mAb1 оставались прозрачными до слегка опалесцирующего жидким раствором, по существу свободным от видимых частиц.

Составленные в композицию mAb1 были физически и химически стабильны при воздействии различного стресса (инкубация при 25 и 45°C) и условий хранения в реальном времени (5°C) (табл. 8). Внешний вид не изменялся, когда mAb1 инкубировали при 25°C (3 месяца) или хранили при 5°C в течение 6 месяцев. Кроме того, не наблюдали воздействия на pH раствора, мутность или на количество восстановленных mAb1. После инкубации составленных в композицию mAb1 в течение 3 месяцев при 25°C антитела существенно не разрушались, что определяли по Э-ВЭЖХ, и было не более 3,3% разрушенных, что определяли по КО-ВЭЖХ. Наблюдали повышенное разрушение после инкубации при 45°C в течение 8 недель, что определяли Э-ВЭЖХ и КО-ВЭЖХ, показывая, что образование агрегатов и вариантов заряда является основными путями разрушения молекулы антитела mAb1. Не наблюдали разрушения, когда составленные в композицию mAb1 хранили в течение 6 месяцев при 5°C.

Таблица 8

Стресс тест	Отсутствие хранения	5°C			25°C	
		2 мес.	3 мес.	6 мес.	1 мес.	3 мес.
Длительность хранения	-	2 мес.	3 мес.	6 мес.	1 мес.	3 мес.
Внешний вид	Удовл.	Удовл.	Удовл.	Удовл.	Удовл.	Удовл.
Мутность (ОП 405 нм)	0,00	0,00	0,00	0,00	0,01	0,01
pH	6,0	6,0	5,9	5,9	6,0	6,0
% mAb1 (ОФ-ВЭЖХ)	100	97	104		97	102
% нативных mAb1 (ВР-ВЭЖХ)	98,1	98,2	98,2		98,1	97,8
% mAb1 (пики из КО-ВЭЖХ)	Кислый	14,6	14,7	14,7	16,0	17,6
	Главный пик	70,7	70,5	70,4	69,8	67,4
	Щелочной	14,7	14,8	14,9	14,3	15,0
Стресс тест	Отсутствие хранения	45°C				
Длительность хранения	-	2 нед.	3 нед.	6 нед.		
Внешний вид	Удовл.	Удовл.	Удовл.	Удовл.	Удовл.	
Мутность (ОП 405 нм)	0,00	0,02	0,03	0,05		
pH	6,0	6,0	6,0	6,0		
% mAb1 (ОФ-ВЭЖХ)	100	102	98	100		
% нативных mAb1 (ВР-ВЭЖХ)	98,1	95,9	94,2	90,5		
% mAb1 (пики из КО-ВЭЖХ)	Кислый	14,6	20,8	29,9	44,0	
	Главный пик	70,7	64,5	56,7	45,1	
	Щелочной	14,7	14,7	13,4	10,9	

Согласно табл. 8 ОП = оптическая плотность; ОФ-ВЭЖХ = высокоэффективная жидкостная хроматография с обращенной фазой; Э-ВЭЖХ = эксклюзионная высокоэффективная жидкостная хроматография и КО-ВЭЖХ = катионообменная высокоэффективная жидкостная хроматография. Кислые и щелочные виды определяли как сумму пиков mAb1, которые элюируют из колонки КО-ВЭЖХ с более ранним или более поздним временем удерживания, чем главный пик, соответственно.

Пример 6. Контейнеры.

Композиции, содержащие mAb1, определяли как стабильные при фильтрационной стерилизации. Набор для фильтрации Millipore MILLIPAK использовали в получении клинических партий, тогда как фильтрацию идентичных композиций использовали в научных исследованиях (Millipore MILLEX DURAPORE).

5-мл стеклянный флакон заполняли минимум на 2,5 мл 150 мг/мл mAb1, 5% (мас./об.) сахарозы, 25 мМ гидрохлорида L-аргинина, 0,2% (мас./об.) полисорбата 20, 12,5 мМ ацетата, 20 мМ гистидина, pH 5,9. Избыток 0,5 мл композиции помещали в 5-мл флакон для обеспечения того, чтобы можно было забрать 2,0 мл композиции. Такой избыток не был создан для компенсации потерь при производстве mAb1 или композиции, содержащей mAb1, разрушения во время производства, разрушения во время хранения (срок годности) или для удлинения периода срока годности.

По сравнению с хранением в стеклянных флаконах на стабильность составленных в композицию mAb1 (композиция А) не влияло хранение или в полипропиленовой пробирке, или полистирольной пробирке, или поликарбонатной пробирке, или в стеклянном флаконе, содержащем кусочки нержавеющей стали (табл. 9).

Таблица 9

Температура хранения	Отсутствие хранения	40°C в течение 14 дней					
		Стекло	Полипропилен	Полистирол	Поликарбонат	Нержавеющая сталь	
Контейнер для хранения	Стекло	Стекло	Полипропилен	Полистирол	Поликарбонат	Нержавеющая сталь	
Внешний вид	Удовл.	Удовл.	Удовл.	Удовл.	Удовл.	Удовл.	
Мутность (ОП при 405 нм)	0,00	0,01	0,01	0,02	0,02	0,01	
pH	5,9	5,9	5,7	5,8	5,8	5,9	
% mAb1 (ОФ-ВЭЖХ)	100	102	103	107	106	102	
% нативных mAb1 (ВР-ВЭЖХ)	98,4	97,6	97,4	97,5	97,5	96,1	
% пика mAb1 (КО-ВЭЖХ)	Кислый	14,8	18,4	19,1	18,4	18,4	20,3
	Главный	70,7	65,8	65,5	66,0	66,5	65,0
	Щелочной	14,5	15,8	15,3	15,6	15,1	14,7

Согласно табл. 9 150 мг/мл mAb1, 5% сахарозы, 25 мМ гидрохлорида аргинина, 0,2% PS-20, 20 мМ гистидина, 12,5 мМ ацетата, pH 5,9 инкубировали с/в различных веществах при 40°C в течение 14 дней. ОП = оптическая плотность; ОФ-ВЭЖХ = высокоэффективная жидкостная хроматография с обращенной фазой; Э-ВЭЖХ = эксклюзионная высокоэффективная жидкостная хроматография и КО-ВЭЖХ = катионообменная высокоэффективная жидкостная хроматография. Мутность представляют как относительное изменение ОП при 405 нм по сравнению с исходным веществом. Кислые или основные виды определяют как сумму пиков mAb1, которые элюируют из колонки КО-ВЭЖХ с более ранним или более поздним временем удерживания, чем главный пик, соответственно.

## ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Дозированная форма жидкой фармацевтической композиции, представляющая собой заранее заполненный шприц, где фармацевтическая композиция содержит:

(a) антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которые специфически связываются с альфа-рецептором человеческого интерлейкина-4 (hIL-4R $\alpha$ ), где антитело содержит вариабельную область тяжелой цепи (HCVR), которая содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1, и вариабельную область легкой цепи (LCVR), которая содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 5;

(b) от 10 до 15 мМ ацетата;

(c) от 15 до 25 мМ гистидина;

(d) от 2,5 до 10% мас./об. сахарозы;

(e) от 0,1 до 0,3% мас./об. полисорбата;

(f) от 20 до 100 мМ аргинина,

где указанная жидкая фармацевтическая композиция имеет pH от 5,6 до 6,2.

2. Дозированная форма по п.1, отличающаяся тем, что шприц является нормальновольфрамовым шприцем.

3. Дозированная форма по п.1, отличающаяся тем, что шприц является низковольфрамовым шприцем.

4. Дозированная форма по п.1, отличающаяся тем, что шприц включает поршень, покрытый фторуглеродной пленкой.

5. Дозированная форма по п.1, отличающаяся тем, что шприц является низковольфрамовым шприцем, и тем, что шприц включает поршень, покрытый фторуглеродной пленкой.

6. Дозированная форма по п.1, отличающаяся тем, что по меньшей мере 90% антител имеют нативную конформацию по истечении восьми недель хранения при 45°C.

7. Дозированная форма по п.1, отличающаяся тем, что менее 45% антител в составе композиции представлены кислыми формами по истечении восьми недель хранения при 45°C.

8. Дозированная форма по п.1, отличающаяся тем, что по меньшей мере 98% антител в составе композиции имеют нативную конформацию по истечении шести месяцев хранения при 5°C.

9. Дозированная форма по п.1, отличающаяся тем, что по меньшей мере 4% антител, восстановленных по истечении шести месяцев хранения при 25°C, являются агрегированными.

10. Дозированная форма по любому из пп.1-9, отличающаяся тем, что композиция содержит антитело или антигенсвязывающий фрагмент в концентрации до 200 мг/мл.

11. Дозированная форма по п.10, отличающаяся тем, что композиция содержит 175 мг/мл антитела.

12. Дозированная форма по п.10, отличающаяся тем, что композиция содержит 150 мг/мл антитела.

13. Дозированная форма по п.10, отличающаяся тем, что композиция содержит 100 мг/мл антитела.

14. Дозированная форма по любому из пп.1-13, отличающаяся тем, что полисорбатом является полисорбат 20.

15. Дозированная форма по любому из пп.1-13, отличающаяся тем, что полисорбатом является полисорбат 80.

16. Дозированная форма по любому из пп.1-15, отличающаяся тем, что композиция содержит полисорбат в концентрации  $0,2 \pm 0,03\%$  мас./об.

17. Дозированная форма по любому из пп.1-16, отличающаяся тем, что композиция содержит аргинин в концентрации  $25 \pm 3,75$  мМ.

18. Дозированная форма по любому из пп.1-16, отличающаяся тем, что композиция содержит аргинин в концентрации  $50 \pm 7,5$  мМ.

19. Дозированная форма по п.1, отличающаяся тем, что композиция включает:

(a)  $150 \pm 50$  мг/мл антитела;

(b)  $12,5 \pm 2$  мМ ацетата;

(c)  $20 \pm 3$  мМ гистидина;

(d)  $5 \pm 0,75\%$  мас./об. сахарозы;

(e)  $0,2 \pm 0,03\%$  мас./об. полисорбата 20;

(f)  $25 \pm 3,75$  мМ аргинина,

где указанная жидкая фармацевтическая композиция имеет pH  $5,9 \pm 0,3$ .

20. Дозированная форма по п.1, отличающаяся тем, что композиция включает:

(a)  $150 \pm 50$  мг/мл антитела;

(b)  $12,5 \pm 2$  мМ ацетата;

(c)  $20 \pm 3$  мМ гистидина;

(d)  $5 \pm 0,75\%$  мас./об. сахарозы;

(e)  $0,2 \pm 0,03\%$  мас./об. полисорбата 80;

(f)  $25 \pm 3,75$  мМ аргинина,

где указанная жидкая фармацевтическая композиция имеет рН  $5,9 \pm 0,3$ .

21. Дозированная форма по п. 1, отличающаяся тем, что композиция включает:

- (a) 175 мг/мл антитела;
- (b)  $12,5 \pm 2$  мМ ацетата;
- (c)  $20 \pm 3$  мМ гистидина;
- (d)  $5 \pm 0,75\%$  мас./об. сахарозы;
- (e)  $0,2 \pm 0,03\%$  мас./об. полисорбата 20;
- (f)  $50 \pm 7,5$  мМ аргинина,

где указанная жидкая фармацевтическая композиция имеет рН  $5,9 \pm 0,3$ .

22. Дозированная форма по п. 1, отличающаяся тем, что композиция включает:

- (a) 175 мг/мл антитела;
- (b)  $12,5 \pm 2$  мМ ацетата;
- (c)  $20 \pm 3$  мМ гистидина;
- (d)  $5 \pm 0,75\%$  мас./об. сахарозы;
- (e)  $0,2 \pm 0,03\%$  мас./об. полисорбата 80;
- (f)  $50 \pm 7,5$  мМ аргинина,

где указанная жидкая фармацевтическая композиция имеет рН  $5,9 \pm 0,3$ .

