

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **035719**

(13) **B1**

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

(45) Дата публикации и выдачи патента
2020.07.30

(21) Номер заявки
201791716

(22) Дата подачи заявки
2016.02.05

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

(54) **ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ СОСТАВ**

(31) **15154301.4**

(32) **2015.02.09**

(33) **EP**

(43) **2017.12.29**

(86) **PCT/EP2016/052494**

(87) **WO 2016/128318 2016.08.18**

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
ЮСБ БИОФАРМА СПРЛ (BE)

(72) Изобретатель:
**Бонен Майкл Йозеф Эдуард, Пербом
Клод (BE)**

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

(56) **WO-A1-2014036076
US-A1-2007086979
WO-A1-2013087699**

(57) Настоящее изобретение относится к жидкому фармацевтическому составу, включающему антитело в качестве активного ингредиента, а также глицин и сахарозу, где антитело специфически связывается с рецептором колониестимулирующего фактора-1 (CSF1R) и где антитело включает а) легкую цепь, включающую CDR1, CDR2 и CDR3, как определено в SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2 и SEQ ID NO: 3 соответственно; и б) тяжелую цепь, включающую CDR1, CDR2 и CDR3, как определено в SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5 и SEQ ID NO: 6 соответственно. Изобретение предоставляет улучшенные жидкие фармацевтические составы антител с пониженной агрегацией и преципитацией белка после долгосрочного хранения.

B1

035719

035719

B1

Область техники, к которой относится изобретение

Настоящее изобретение принадлежит к области фармацевтических составов. Более конкретно оно относится к фармацевтическому составу, включающему белок, такой как антитело.

Уровень техники

Антитела, как и прочие белковые лекарственные средства, представляют собой крупные и сложные молекулы, которые являются нестабильными по своей природе при хранении в течение длительного периода времени, как химически, так и физически, что потенциально приводит к снижению или потере их активности. Типичная химическая нестабильность может приводить к дезамидированию, гидролизу, окислению, бета-элиминированию или дисульфидному обмену. Физическая нестабильность может приводить к денатурации, агрегации или преципитации.

Таким образом, для хранения, транспортировки, эксплуатации и введения фармацевтических составов антител и прочих белков необходимо минимизировать любые из упомянутых выше явлений. Антитела можно изготавливать в высушенной замораживанием, т.е. лиофилизированной, форме для разведения в растворителе непосредственно перед введением или антитела можно изготавливать в жидкой форме, такой как водный раствор. Лиофилизированные составы антител обладают склонностью к большей стабильности, поскольку вода либо является реагентом, либо в качестве растворителя облегчает перенос реагентов и является, таким образом, очень важным компонентом для различных путей химической деградации, которая ведет к нестабильности белка (Andya, J.D., Hsu, C.C., & Shire, S.J. (2003). Mechanisms of aggregate formation and carbohydrate excipient stabilization of lyophilized humanized monoclonal antibody formulations. *AAPS PharmSci*, 5, E10). Тем не менее, несмотря на тенденцию к меньшей стабильности, интерес последнее время фокусируется на жидких составах антител и прочих белков, поскольку их эксплуатация и введение являются более простыми и удобными для пациента и медицинского работника по сравнению с лиофилизированными составами. Жидкие составы не требуют разведения и могут вводиться при минимальной подготовке. Тем не менее, стабилизация белков в жидких составах для избегания или минимизации нежелательных реакций, таких как агрегация, преципитация или деградация, остается особой проблемой. Особенной проблемой является агрегация. Отдельные молекулы белка физически прилипают друг к другу, что приводит, например, к образованию нерастворимого вещества или преципитата, который не может больше быть активным и даже может вызывать нежелательные иммунологические реакции при введении. В дополнение, основной проблемой, обусловленной образованием агрегатов, является то, что во время введения фармацевтического состав может блокировать шприцы или насосы.

Предлагаемые физические пути деградации с образованием агрегата и частиц часто описываются как результат сочетания эффектов конформационной и коллоидной стабильности.

Конформационная стабильность представляет собой разницу свободной энергии между нативным уложенным состоянием и неупорядоченным состоянием в физиологических условиях и, в связи с этим, показатель предрасположенности антитела к разворачиванию. Разворачивание часто несет ответственность за общую скорость агрегации. Коллоидная стабильность относится к предрасположенности к самоотталкиванию молекул в нативном состоянии в основном за счет неспецифических зарядов, локализующихся на поверхности молекулы.

Агрегацию и деградацию белка во время длительного периода хранения в целом оценивают путем определения концентраций высокомолекулярных соединений (HMWS), присутствующих в составе после данного периода хранения, обычно при помощи эксклюзионной хроматографии (SEC). Иногда данные события могут приводить к преципитации, которая визуально заметна наблюдателю.

Для того чтобы применять фармацевтические составы антител и прочих белковых лекарственных средств, они должны иметь долгосрочную стабильность, а также необходима минимизация вышеупомянутых реакций с целью включения корректного количества фармацевтического ингредиента в активной форме.

Соответственно в области техники исследуют различные стабилизаторы для способствования снижению скорости деградации антител путем предпочтительного механизма исключения, что приводит к слою избыточной воды, окружающей антитело, и заставляет белок приобретать более компактное состояние для минимизации его площади поверхности. Стабилизаторы включают определенные сахара, полиолы, аминокислоты, соли и полимеры, такие как полиэтиленгликоль. В целом для данного состава выбирают предпочтительный стабилизатор, хотя иногда можно применять комбинацию стабилизаторов.

Обычно в жидких составах антител для инъекций в качестве альтернативы сахарам применяют аминокислотные стабилизаторы, обычно изготавливаемые при более низком pH для оптимизации стабильности антитела. Более того, глицин является частым выбором в качестве наполнителя в лиофилизированных продуктах, в которых требуются кристаллизующиеся соединения для обеспечения подходящей текстуры, чтобы, таким образом, избежать проблем с кажущимся объемом и стабильностью состава, таких как распад во время процесса первичной сушки. Кристаллический наполнитель будет действовать в качестве наполнителя, повышая плотность твердого продукта и избегая любого риска потери структуры. Кристаллический наполнитель также предоставляет гомогенные плотные композиции, его легко разводить, и он обладает высокой эвтектической температурой, что обеспечивает высокую температуру суб-

лимации во время первичной сушки в процессе лиофилизации. В данном случае применяют глицин по причине его кристаллизационных, т.е. криопротекторных свойств, и тем не менее после кристаллизации он больше не обладает стабилизационным потенциалом, и, следовательно, как правило, к такому составу добавляют стабилизирующее средство.

Выбор стабилизатора также обусловлен их соответствующими профилями риска, такими как возможное влияние на содержание глюкозы в крови и их влияние на функцию почек. В связи с этим введенная при помощи внутривенной инъекции сахароза не может гидролизиться и, таким образом, повлиять на концентрации глюкозы в крови. Несмотря на это, внутривенные препараты антител ассоциируют с нарушением функции почек, острой почечной недостаточностью и осмотическим нефрозом, при которых стабилизированные сахаром составы, в частности сахарозой, демонстрируют наивысший риск развития острой почечной недостаточности по причине осмотического нефроза. Сахароза представляет собой дисахарид, состоящий из моносахаридов глюкозы и фруктозы, и по сравнению с другими органическими осмолитами сахароза представляет собой стабилизатор белка умеренной силы (Street T.O. et al., A molecular mechanism for osmolyte-induced protein stability. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 2006; 103(38):13997-14002).

В дополнение, составы обычно содержат дополнительные эксципиенты, такие как буферные средства, поверхностно-активные вещества или наполнители (обычно присутствуют в лиофилизированных составах).

В заявке US 8632778 раскрыт жидкий состав, содержащий гуманизированное PM-1 антитело в гистидиновом буфере, содержащем глицин и не содержащем сахар.

В заявке US 2004/0033228 раскрыт жидкий состав, содержащий антитело, маннитол и полисорбат в цитратном или фосфатном буфере.

В заявке US 6372716 раскрыт лиофилизированный состав, содержащий фактор IX в гистидиновом буфере, содержащем глицин и сахарозу.

Несмотря на то, что в целом антитела имеют сходную структуру, они отличаются по аминокислотным составам и их профилям гликозилирования, а также возможными посттрансляционными модификациями, такими как варианты заряда и гликозилирования. Эти отличия могут привести к измененным взаимодействиям с другими компонентами, которые будут влиять на долгосрочную стабильность конечного состава, который в дальнейшем также потребует оптимизации.

При наличии склонности к повышению концентрации белка в составах для обеспечения более низких объемов введения, проблемы, касающиеся агрегации и преципитации белка, становятся более очевидными. Учитывая вышеизложенное, в области техники сохраняется потребность для предоставления дальнейших улучшенных жидких фармацевтических составов антител с пониженной агрегацией и преципитацией белка после долгосрочного хранения.

Подробное описание изобретения

Настоящее изобретение направлено на удовлетворение определенной выше потребности путем предоставления нового жидкого состава, включающего лечебный белок в качестве активного ингредиента, в частности антитело. В настоящее время неожиданно наблюдается различный стабилизирующий эффект среди стабилизаторов в отношении появления растворимых агрегатов по сравнению с крупными нерастворимыми агрегатами (преципитатами) в жидком фармацевтическом составе. Это неожиданное наблюдение привело к новому фармацевтическому составу, демонстрирующему пониженную агрегацию и преципитацию белка после долгосрочного хранения. Более конкретно изобретение дополнительно предоставляет жидкий состав, включающий антитело, специфически связывающееся с CSF1R, в качестве активного ингредиента.

В первом варианте осуществления изобретение предоставляет жидкий фармацевтический состав, включающий антитело в качестве активного ингредиента, глицин и сахарозу.

Во втором варианте осуществления жидкий фармацевтический состав по первому варианту осуществления изобретения включает глицин в концентрации от 20 до 200 ммоль. В другом варианте осуществления жидкого фармацевтического состава изобретения концентрация глицина составляет от 50 до 200 ммоль, от 75 до 175 ммоль, предпочтительно от 100 до 150 ммоль или составляет 125 ммоль.

В третьем варианте осуществления жидкий фармацевтический состав по первому или второму варианту осуществления изобретения включает сахарозу в концентрации от 20 до 200 ммоль. В другом варианте осуществления жидкого фармацевтического состава изобретения концентрация сахарозы составляет от 50 до 200 ммоль, от 75 до 175 ммоль, предпочтительно от 100 до 150 ммоль или составляет 125 ммоль.

В четвертом варианте осуществления жидкий фармацевтический состав по любому из вариантов осуществления изобретения включает по меньшей мере 50 мг/мл антитела, предпочтительно от 50 до 300, или от 50 до 250, или от 50 до 200, или от 50 до 150, или от 50 до 100 мг/мл.

В дополнительном конкретном варианте осуществления жидкий фармацевтический состав по любому вариантам осуществления изобретения включает от 40 до 80 мг/мл антитела, в качестве альтернативы от 40 до 60 мг/мл антитела.

В пятом варианте осуществления жидкий фармацевтический состав по любому варианту осуществ-

ления изобретения дополнительно включает поверхностно-активное вещество.

Специалисту в области техники известен выбор поверхностно-активных веществ, доступных для применения в жидком составе по любому варианту осуществления изобретения, которые представляют собой, но не ограничиваются Полисорбатом 80, Полисорбатом 20, лецитином, полоксамером (например, полоксамером 188), додецилсульфатом натрия (SDS), лаурилсульфатом натрия, октилглицозидом натрия, лаурил-, миристил-, линолеил- или стеарилсульфобетаном, лаурил-, миристил-, линолеил- или стеарилсаркозином, линолеил-, миристил- или цетилбетаном, лауроамидопропил-, кокамидопропил-, линолеамидопропил-, миристамидопропил-, пальмидопропил- или изостеарамидопропилбетаном, миристамидопропил-, пальмидопропил- или изостеарамидопропилдиметиламином, натриевым метилкокоил- или динатриевым метилолеилтауратом, полиэтилглицолем, полипропилглицолем и сополимерами этилен- и пропиленгликоля. В дополнительном конкретном варианте осуществления изобретения жидкий фармацевтический состав включает Полисорбат 80.

В шестом варианте осуществления жидкий состав изобретения включает от 0,01 до 10% Полисорбата 80. Количество поверхностно-активного вещества можно корректировать в соответствии с конкретным белком и содержанием состава. Таким образом, в дополнительном варианте осуществления состав изобретения включает от 0,01 до 5% Полисорбата 80, от 0,01 до 1% Полисорбата 80, от 0,01 до 0,1% Полисорбата 80, предпочтительно от 0,02 до 0,1% или 0,05% Полисорбата 80.

Жидкий фармацевтический состав по любому варианту осуществления изобретения может содержать буферное средство для поддержания постоянного pH во время хранения и введения. Существует множество буферных средств, применяемых в области жидких фармацевтических составов, включая, но не ограничиваясь цитратом, фосфатом, лактатом, гистидином, глутаматом, малеатом, тартратом или сукцинатом. Предпочтительные буферные соединения обычно выбирают среди тех, которые имеют рКа близкое (+/-1 единица pH) к предпочтительному pH для оптимальной стабильности белка с целью поддержания высокой буферной емкости и которые ассоциированы с максимальной демонстрируемой стабильностью, наблюдаемой для конкретного белка при его помещении в серии с различными буферными соединениями. Как правило, адекватный диапазон pH состава выбирают из значений, ассоциированных с максимальной демонстрируемой стабильностью, наблюдаемой для конкретного белка при помещении его в серии составов с различным pH.

В конкретном варианте осуществления изобретения жидкий фармацевтический состав по любому варианту осуществления изобретения включает цитрат, предпочтительно цитрат в концентрации от 10 до 100 ммоль, от 10 до 80, от 10 до 60, от 25 до 60, предпочтительно от 40 до 60 ммоль или в концентрации 50 ммоль.

В дополнительном конкретном варианте осуществления жидкий фармацевтический состав по любому варианту осуществления изобретения имеет pH от 4 до 7, предпочтительно от 4 до 6, предпочтительно от 4,5 до 5,5 или равный 5.

В седьмом варианте осуществления жидкого фармацевтического состава по любому из вариантов осуществления изобретения антитело специфически связывается с рецептором колониестимулирующего фактора-1 (CSF1R).

В восьмом варианте осуществления жидкого фармацевтического состава по любому из вариантов осуществления изобретения специфически связывается с CSF1R человека.

В девятом варианте осуществления жидкого фармацевтического состава по любому из вариантов осуществления изобретения антитело нейтрализует CSF1R.

В десятом варианте осуществления жидкого фармацевтического состава по любому из вариантов осуществления изобретения антитело представляет собой гуманизованное антитело или антитело человека.

В одиннадцатом варианте осуществления жидкого фармацевтического состава по любому из вариантов осуществления изобретения антитело включает (а) легкую цепь, включающую CDR1, CDR2 и CDR3, в соответствии с SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2 и SEQ ID NO: 3 соответственно и (b) тяжелую цепь, включающую CDR1, CDR2 и CDR3, в соответствии с SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5 и SEQ ID NO: 6 соответственно.

В двенадцатом варианте осуществления жидкого фармацевтического состава по любому из вариантов осуществления изобретения антитело включает переменный участок легкой цепи в соответствии с SEQ ID NO: 7 или 8 и переменный участок тяжелой цепи в соответствии с SEQ ID NO: 11 или 12.

В дополнительном варианте осуществления жидкого фармацевтического состава по любому из вариантов осуществления изобретения антитело включает легкую цепь в соответствии с SEQ ID NO: 9 или 10 и тяжелую цепь в соответствии с SEQ ID NO: 13 или 14.

В тринадцатом варианте осуществления жидкий фармацевтический состав изобретения включает от 40 до 60 ммоль цитратного буфера при pH 5, от 100 до 150 ммоль глицина, от 100 до 150 ммоль сахарозы и от 0,02 до 0,1% Полисорбата 80.

В дополнительном конкретном варианте осуществления жидкий фармацевтический состав в соответствии с изобретением включает по меньшей мере 50 мг/мл антитела, 50 ммоль цитратного буфера при pH 5, 125 ммоль глицина, 125 ммоль сахарозы и 0,05% Полисорбата 80, где антитело представляет собой

анти-CSF1R антитело.

В другом варианте осуществления жидкого фармацевтического состава по любому из вариантов осуществления изобретения стабильный фармацевтический состав демонстрирует повышение содержания высокомолекулярных соединений (HMWS), равное или не превышающее 10%, предпочтительно равное или не превышающее 5%, более предпочтительно равное или не превышающее 3,5%, измеряемое после трех месяцев хранения при температуре, приблизительно равной 35°C. В качестве альтернативы стабильный фармацевтический состав демонстрирует повышение содержания высокомолекулярных соединений (HMWS), равное или не превышающее 1,2%, предпочтительно равное или не превышающее 1,05%, в каждом случае измеряемое после 3 месяцев хранения при температуре, приблизительно равной 25°C. Предпочтительно количество HMWS в составе предпочтительно измеряют при помощи эксклюзивной хроматографии.

В дополнительном варианте осуществления изобретение предоставляет способ лечения млекопитающего, в частности человека, включающий введение терапевтически эффективного количества жидкого фармацевтического состава в соответствии с любыми вариантами осуществления, раскрытыми в этой заявке, включающего антитело, специфически связывающееся с CSF1R, такое как антитело, имеющее легкую цепь в соответствии с SEQ ID NO: 9 или 10 и тяжелую цепь в соответствии с SEQ ID NO: 13 или 14, в качестве активного ингредиента млекопитающему, в частности человеку, где млекопитающее, в частности человек, имеет заболевание, которое можно облегчить путем лечения при помощи этого антитела, специфически связывающегося с CSF1R, где заболевание представляет собой рак, такой как, например, лейкемия и неходжкинская лимфома, острый лимфобластный лейкоз, острый миелолейкоз, острый миелолейкоз взрослых, аденокарцинома, астроцитомы, базально-клеточная карцинома, рак желчевыводящих путей, рак мочевого пузыря, рак костей, такой как остеосаркома и злокачественная фиброзная гистиоцитома, глиома, эпендимома, медуллобластома, рак груди, аденома бронхов, рак шейки матки, хронический лимфобластный лейкоз, хронический миелолейкоз, рак толстой кишки, колоректальный рак, рак эндометрия, рак пищевода, семейство опухолей Юинга, экстракраниальная герминогенная опухоль, внегонадная герминогенная опухоль, рак внепеченочных желчных протоков, ретинобластома, рак желчного пузыря, рак желудочно-кишечного тракта (желудка), карциноидная опухоль желудочно-кишечного тракта, стромальная опухоль желудочно-кишечного тракта (GIST), герминогенная опухоль, гестационная трофобластная опухоль, волосатоклеточный лейкоз, рак головы и шеи, гепатоклеточный (печеночный) рак, лимфома, такая как лимфома Ходжкина, лимфома Беркитта, кожная Т-клеточная лимфома, такая как грибовидный микоз и синдром Сезари, гипофарингеальный рак, меланома, такая как интраокулярная меланома, саркома Капоши, рак почек (почечно-клеточный), рак гортани, рак губ и полости рта, рак легких, такой как немелкоклеточный рак легких или мелкоклеточный рак легких, макроглобулинемия Вальденстрема, карцинома из клеток Меркеля, мезотелиома, рак ротовой полости, множественная миелома, миелодиспластические синдромы, рак носоглотки, нейробластома, рак ротоглотки, рак яичника, рак поджелудочной железы, рак парашитовидных желез, рак полового члена, фарингеальный рак, феохромоцитомы, пинеобластома и супратенториальные примитивные нейроэктодермальные опухоли, опухоль гипофиза, плазмноклеточная опухоль, плевральной бластома, рак простаты, ректальный рак, рабдомиосаркома, рак слюнной железы, саркома, рак яичка, рак горла, тимомы, рак щитовидной железы, рак уретры или опухоль Вильмса.

В другом дополнительном варианте осуществления заболевание, которое можно облегчить при помощи лечения антителом, специфически связывающимся с CSF1R, представляет собой фиброзное заболевание, такое как, например, фиброз легких, такой как идиопатический фиброз легких и кистозный фиброз, фиброз почек, включая канальцевую атрофию и интерстициальный фиброз, фиброз печени, цирроз печени, первичный склерозирующий холангит, первичный билиарный цирроз, прогрессивный массивный фиброз, нефрогенный системный фиброз, болезнь Крона, келоид, инфаркт миокарда, склеродермия, системный склероз и артрофиброз.

Жидкий фармацевтический состав изобретения подходящим образом вводят пациенту однократно или в течение курса лечения, а также возможно введение пациенту в любой момент времени после постановки диагноза; также возможно введение в качестве монотерапии или в сочетании с другими лекарственными средствами или видами терапии, полезными для лечения заболеваний, описанных в этой заявке ранее.

Молекула антитела может быть единственным активным ингредиентом в жидкой фармацевтической композиции. В качестве альтернативы антитело можно вводить в комбинации, например одновременно, последовательно или по-отдельности с одним или более другими терапевтически активными ингредиентами. Соответственно молекулу антитела в жидкой фармацевтической композиции могут сопровождать другие активные ингредиенты, включая другие ингредиенты в виде антител, например антитела к семейству рецепторов эпидермального фактора роста (EGFR, HER-2), рецептору фактора роста эндотелия сосудов (VEGFR), рецептору тромбоцитарного фактора роста (PDGFR), или ингредиенты, не являющиеся антителами, такие как иматиниб, дазатиниб, нилотиниб, базутиниб, gefitinib, эрлотиниб, темсиролиму, вандетаниб, вемурафениб, кризотиниб, вориностат, ромидепсин, бортезомиб, сорафениб, сунитиниб, пазопаниб, регорафениб, кабозантиниб, пирфенидон, глюкокортикостероиды или другие ле-

карственные молекулы. В конкретном варианте осуществления жидкая фармацевтическая композиция изобретения включает антитело, специфически связывающееся с CSF1R, в качестве первого активного ингредиента, и дополнительно включает второй активный ингредиент.

Активный ингредиент, как применяют в данной заявке, относится к активному ингредиенту, оказывающему фармакологическое действие, такое как терапевтическое действие, при применении соответствующей дозы.

Фармацевтические композиции подходящим образом включают терапевтически эффективное количество антитела. Термин "терапевтически эффективное количество", как применяют в данной заявке, относится к количеству лекарственного средства, необходимому для лечения, облегчения или профилактики развития целевого заболевания или состояния или для проявления обнаруживаемого терапевтического, фармакологического или профилактического действия. Для любого антитела терапевтически эффективное количество можно установить изначально либо в анализах культур клеток, либо на моделях животных, обычно на грызунах, кроликах, собаках, свиньях или приматах. Модели животных также можно использовать для определения подходящего диапазона концентраций и пути введения. Эту информацию можно далее применять для определения эффективных доз и путей введения у людей.

Точное терапевтически эффективное количество для людей будет зависеть от степени тяжести заболевания, общего состояния здоровья пациента, возраста, массы тела и пола пациента, диеты, времени и частоты введения, комбинации (комбинаций) лекарственных средств, аллергических реакций и переносимости/ответа на терапию. Это количество можно определить при проведении стандартного эксперимента по усмотрению практикующего врача. В целом, терапевтически эффективное количество антитела составляет от 0,01 до 500 мг/кг, например от 0,1 до 200 мг/кг, например составляет 100 мг/кг.

Фармацевтические композиции могут быть удобным образом представлены в формах однократных доз, содержащих предварительно определенное количество активного ингредиента изобретения на дозу.

Для лечения вышеперечисленных заболеваний подходящая дозировка будет варьировать в зависимости от, например, конкретного применяемого антитела, получающего лечение пациента, способа введения и природы и тяжести состояния, по поводу которого назначают лечение. В конкретном варианте осуществления жидкий фармацевтический состав изобретения вводят внутривенным или подкожным путем. При введении при помощи внутривенной инъекции состав можно вводить в виде болюсной инъекции или длительной инфузии. Фармацевтический состав по любому варианту осуществления изобретения также можно вводить при помощи внутримышечной инъекции. Фармацевтический состав можно вводить с применением шприца, прибора для инъекции, такого как автоинъектор, безыгольного прибора, имплантата и пластыря. Состав изобретения также можно вводить при помощи ингаляции с применением ингалятора, содержащего этот состав для такой доставки, например с применением небулайзера или жидкостного ингалятора.

Способ для получения молекул антител обычно включает культивирование клетки-хозяина, содержащей вектор, кодирующий последовательность антитела, в условиях, подходящих для экспрессирования белка из ДНК, кодирующей молекулу антитела настоящего изобретения, и выделение молекулы антитела.

Молекула антитела может включать только полипептид тяжелой или легкой цепи, в случае чего необходимо применение кодирующей последовательности полипептида тяжелой цепи или легкой цепи для трансфекции клеток-хозяев. Для получения продуктов, содержащих как тяжелые, так и легкие цепи, линию клеток можно трансфицировать двумя векторами, где первый вектор кодирует полипептид легкой цепи и второй вектор кодирует полипептид тяжелой цепи. В качестве альтернативы можно применять один вектор, где вектор включает последовательности, кодирующие полипептиды легкой цепи и тяжелой цепи.

Антитело или фрагмент антитела, которые можно получать в соответствии с масштабами производства, можно получать путем культивирования эукариотических клеток-хозяев, трансфицированных одним или более экспрессионными векторами, кодирующими фрагмент рекомбинантного антитела. Эукариотические клетки-хозяева предпочтительно представляют собой клетки млекопитающих, более предпочтительно клетки яичника китайского хомячка (СНО).

Клетки млекопитающих можно культивировать в любой среде, которая поддерживает их рост и экспрессию рекомбинантного белка, предпочтительно в среде с известным химическим составом, которая свободна от продуктов животного происхождения, таких как сыворотка крови животного и пептон. Существуют различные среды для культур клеток, доступные специалистам в области техники, включающие различные комбинации витаминов, аминокислот, гормонов, факторов роста, ионов, буферов, нуклеозидов, глюкозы или эквивалентного источника энергии, присутствующих в подходящих концентрациях для обеспечения роста клеток и получения белка. Дополнительные компоненты сред для культуры клеток могут быть включены в среду для культуры клеток в подходящих концентрациях на различных этапах на протяжении цикла культивирования клеток, что будет известно специалистам в области техники.

Культивирование клеток млекопитающих может происходить в любом подходящем контейнере, таком как встряхиваемая колба или биореактор, которые могут работать в режиме периодического культивирования с подпиткой или нет в зависимости от требуемого масштаба производства. Эти биореакторы могут представлять собой либо реакторы с баком-мешалкой либо аэролифтные реакторы. Различные крупные биореакторы доступны при имеющейся вместительности, превышающей 1000-50000 л, предпочти-

тельно между 5000 и 20000 л или до 10000 л. В качестве альтернативы биореакторы меньшего размера, такие как имеющие вместительность между 2 и 100 л, также можно использовать для получения антитела или фрагмента антитела.

Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент обычно обнаруживают в надосадочной жидкости культуры клеток млекопитающих, обычно в культуре клеток СНО. Для способов культивирования СНО, где белок, представляющий интерес, такой как антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, секретируется в надосадочную жидкость, указанную надосадочную жидкость собирают при помощи способов, известных в области техники, обычно при помощи центрифугирования.

Таким образом, способ получения антитела включает стадию центрифугирования и восстановления надосадочной жидкости после культивирования клеток и перед очисткой белка. В еще одном конкретном варианте осуществления указанное центрифугирование представляет собой непрерывное центрифугирование. Во избежание сомнений надосадочная жидкость обозначает жидкость, лежащую над осажденными клетками, полученными в результате центрифугирования культуры клеток.

В качестве альтернативы клетки-хозяева предпочтительно представляют собой прокариотические клетки, предпочтительно грамотрицательные бактерии. Более предпочтительно клетки-хозяева представляют собой клетки *E. coli*. Прокариотические клетки-хозяева для экспрессии белков хорошо известны в области техники (Terpe, K. (2006). Overview of bacterial expression systems for heterologous protein production: from molecular and biochemical fundamentals to commercial systems. *Appl Microbiol Biotechnol* 72, 211-222.). Клетки-хозяева представляют собой рекомбинантные клетки, которые были созданы при помощи генной инженерии для получения белка, представляющего интерес, такого как фрагмент антитела. Рекомбинантные клетки-хозяева *E. coli* можно получить от любого подходящего штамма *E. coli*, включая MC4100, TG1, TG2, DHB4, DH5 α , DH1, BL21, K12, XL1Blue и JM109. Один пример представляет собой штамм *E. coli* W3110 (ATCC 27,325), штамм-хозяин, часто применяемый для ферментации рекомбинантного белка. Фрагменты антитела также можно получать путем культивирования модифицированных штаммов *E. coli*, например метаболических мутантов или штаммов *E. coli*, лишенных протеазы.

Фрагмент антитела, который можно очистить в соответствии со способами настоящего изобретения, обычно обнаруживают либо в периплазме клетки-хозяина *E. coli*, либо в надосадочной жидкости культуры клетки-хозяина, в зависимости от природы белка, объема производства и применяемого штамма *E. coli*. Способы для направления белков в эти компартменты хорошо известны в области техники (Makrides, S.C. (1996). Strategies for achieving high-level expression of genes in *Escherichia coli*. *Microbiol Rev* 60, 512-538.). Примеры подходящих сигнальных последовательностей для направления белков в периплазму *E. coli* включают сигнальные последовательности *E. coli* PhoA, OmpA, OmpT, LamB и OmpF. Белки можно направлять в надосадочную жидкость, полагаясь на природные секреторные пути, или путем индукции ограниченной утечки наружной мембраны для запуска секреции белка, примерами которой являются применение лидерного белка pelB, лидерного белка A, коэкспрессия релизинг-белка бактериоцина, митомицин-опосредованного релизинг-белка бактериоцина, наряду с добавлением глицина в культуральную среду, и коэкспрессия *kil* гена для изменения проницаемости мембраны клетки. Наиболее предпочтительно рекомбинантный белок экспрессируется в периплазме клетки-хозяина *E. coli*.

Экспрессия рекомбинантного белка в клетках-хозяевах *E. coli* также может происходить под контролем индуцируемой системы, в результате чего экспрессия рекомбинантного антитела в *E. coli* находится под контролем индуцируемого промотора. Множество индуцируемых промоторов, подходящих для применения в *E. coli*, хорошо известно в области техники и в зависимости от экспрессии промотора рекомбинантного белка могут быть индуцированы при помощи различных факторов, таких как температура или концентрация определенного вещества в среде для роста. Примеры индуцируемых промоторов включают промоторы *E. coli* *lac*, *tac*, и *trc*, которые индуцируются лактозой или негидролизуемым аналогом лактозы, изопропил-В-D-1-тиогактопиранозидом (ИПТГ, IPTG), а также *phoA*, *trp* и *araBAD* промоторы, которые индуцируются фосфатом, триптофаном и L-арабинозой соответственно. Экспрессия может быть индуцирована при помощи, например, добавления индуктора или изменения температуры в случае, когда индукция является температурозависимой. В случае когда индукция экспрессии рекомбинантного белка достигается добавлением индуктора к культуре, индуктор можно добавлять при помощи любого подходящего способа в зависимости от ферментационной системы и индуктора, например при помощи однократного или многократных впрыскиваний или при помощи постепенного добавления индуктора через систему подачи. Специалистам должно быть ясно, что может иметься задержка между добавлением индуктора и непосредственной индукцией экспрессии белка, например в случае, когда индуктор представляет собой лактозу, может иметься задержка перед индукцией экспрессии белка, поскольку любой уже существующий источник углерода утилизируется до лактозы.

Культуры клеток-хозяев *E. coli* (ферментации) можно культивировать в любой среде, которая поддерживает рост *E. coli* и экспрессию рекомбинантного белка. Среда может представлять собой любую среду с определенным химическим составом, как, например, описано у Durany O., et al. (2004). Studies on the expression of recombinant fuculose-1-phosphate aldolase in *Escherichia coli*. *Process Biochem* 39, 1677-1684.

Культивирование клеток-хозяев *E. coli* может происходить в любом подходящем контейнере, таком как встряхиваемая колба или ферментер, в зависимости от требуемого объема производства. Доступны

различные крупные ферментеры при имеющейся вместительности, превышающей 1000 и до 100000 л. Предпочтительно используют ферментеры вместительностью от 1000 до 50000 л, более предпочтительно от 1000 до 25000, 20000, 15000, 12000 или 10000 л. Также можно использовать ферментеры меньшего размера, имеющие вместительность между 0,5 и 1000 л.

Ферментация *E. coli* может происходить в любой подходящей системе, например в непрерывном, периодическом режиме или режиме периодического культивирования с подпиткой в зависимости от белка и требуемого выхода. Периодический режим можно использовать с впрыскиваниями питательных веществ или индукторов при необходимости. В качестве альтернативы можно использовать культуру с подпиткой и культуры, выращенные в периодическом режиме перед индукцией при максимальной удельной скорости роста, которую можно поддерживать при помощи питательных веществ, изначально присутствующих в ферментере, и одного или более режимов подачи питательной среды, применяемых для контролирования скорости роста, до завершения ферментации. Режим периодического культивирования с подпиткой также можно применять перед индукцией для контролирования метаболизма клеток-хозяев *E. coli* и для обеспечения достижения более высокой плотности клеток.

При желании клетки-хозяева могут быть предметом сбора из культуральной среды, например, клетки-хозяева можно собирать из образца при помощи центрифугирования, фильтрации или концентрирования. В этом случае способ обычно включает стадию центрифугирования и восстановления клеток перед экстракцией белка.

Для процессов ферментации *E. coli*, где белок, представляющий интерес, такой как фрагмент антигена, обнаруживают в периплазматическом пространстве клетки-хозяина, необходимо высвобождение белка из клетки-хозяина. Высвобождения можно достичь при помощи любого подходящего способа, такого как лизис клеток в результате механической обработки или воздействия давлением, воздействия циклов заморозания-оттаивания, осмотического шока, воздействия экстракционных средств или тепловой обработки. Такие способы экстракции для высвобождения белка хорошо известны в области техники. Таким образом, в конкретном варианте осуществления способ получения включает дополнительную стадию экстракции белка перед очисткой белка.

Термин "антитело" или "антитела", как применяют в данной заявке, относится к моноклональным или поликлональным антителам. Термин "антитело" или "антитела", как применяют в данной заявке, включает, но не ограничивается рекомбинантными антителами, которые создают при помощи рекомбинантных технологий, как известно в области техники. Термин "антитело" или "антитела" включает антитела любых видов, в частности видов млекопитающих, включая антитела, имеющие в основном полные две тяжелые и в основном полные две легкие цепи, антитела человека любого изотипа, включая IgA₁, IgA₂, IgD, IgG₁, IgG_{2a}, IgG_{2b}, IgG₃, IgG₄, IgE и IgM, а также их модифицированные варианты, антитела приматов, например, полученные от шимпанзе, бабуина, резус- или яванского макака; антитела грызунов, например, полученные от мыши, крысы или кролика; антитела козлов или лошадей; а также антитела семейства верблюдовых (например, полученные от верблюдов или лам, такие как Nanobodies™), а также производные вышеперечисленных веществ; или антитела, полученные от видов птиц, такие как антитела цыплят, или от видов рыб, такие как антитела акул. Термин "антитело" или "антитела" также относится к "химерным" антителам, в которых одна порция по меньшей мере одной последовательности тяжелой и/или легкой цепи антитела получена от одних видов, и другая порция последовательности тяжелой и/или легкой цепи антитела получена от других видов. Химерные антитела, представляющие интерес, в данной заявке включают "приматизированные" антитела, включающие вариабельный участок антигенсвязывающей области, полученный от низшего примата (например, от обезьяны Старого Света, такой как бабуин, резус- или яванский макак), и последовательности константного участка человека. "Гуманизированные" антитела представляют собой химерные антитела, которые содержат последовательность, полученную из антител животного происхождения. Во многих случаях гуманизированные антитела представляют собой антитела человека (реципиентное антитело), в котором остатки гипервариабельного участка реципиента замещаются остатками гипервариабельного участка (или участка, определяющего комплементарность, CDR) видов, не являющихся человеком (донорское антитело), таких как мышь, крыса, кролик, цыпленок или низший примат, которые имеют желаемую специфичность, аффинность и активность. В большинстве случаев остатки антитела человека (реципиентного) за пределами CDR, т.е. в каркасной области (FR), дополнительно замещаются соответствующими остатками, не принадлежащими человеку. Более того, гуманизированные антитела могут включать остатки, которые не обнаруживаются в реципиентном антителе или в донорском антителе. Эти модификации производят для дополнительного улучшения действия антитела. Гуманизация снижает иммуногенность антител животного происхождения у людей, таким образом, облегчая применение антител для лечения заболеваний человека. Гуманизированные антитела и некоторые различные технологии для их создания хорошо известны в области техники. Термин "антитело" или "антитела" также относится к антителам человека, которые можно создать в качестве альтернативы гуманизации. Например, можно создавать трансгенных животных (например, мышей), которые способны после иммунизации вырабатывать полный спектр антител человека при отсутствии выработки эндогенных мышинных антител. Например, описано, что гомозиготная делеция тяжелой цепи J-сегмента (JH) гена у химерных и мышей с терминальной мутацией

приводит к полному ингибированию выработки эндогенных антител. Перенос генной матрицы иммуноглобулина клеток зародышевой линии человека в такую мышь с терминальной мутацией приведет к выработке антител человека со специфичностью в отношении определенного антигена после иммунизации трансгенного животного, которое является носителем генов иммуноглобулина клеток зародышевой линии человека, указанным антигеном. Технологии создания таких трансгенных животных и технологии выделения и получения антител человека от таких трансгенных животных известны в области техники. В качестве альтернативы у трансгенного животного, например у мыши, замещают только гены иммуноглобулина, кодирующие переменные участки антитела мыши, соответствующими переменными последовательностями гена иммуноглобулина человека. Гены иммуноглобулинов зародышевой линии мышей, кодирующие константные участки антитела, остаются преимущественно неизменными. Таким образом, эффекторные функции антитела в иммунной системе трансгенной мыши и, следовательно, выработка В-клеток остаются неизменными, что может привести к улучшенному ответу антитела на провокацию антигеном *in vivo*. Сразу после выделения генов, кодирующих конкретное антитело, представляющее интерес, из таких трансгенных животных гены, кодирующие константные участки, можно заменить генами константных участков человека для получения полностью гуманизированного антитела. Прочие способы получения антител/фрагментов антител человека *in vitro* основаны на технологии дисплея, например технологии фагового или рибосомного дисплея, где используют библиотеки рекомбинантной ДНК, которые либо создаются, по меньшей мере частично, искусственно, либо берутся из репертуара гена переменного участка (V) иммуноглобулина доноров. Технологии фагового и рибосомного дисплея для создания антител человека хорошо известны в области техники. Антитела человека также можно получать из выделенных В-клеток человека, которые иммунизируют *ex vivo* антигеном, представляющим интерес, и далее объединяют для создания гибридом, которые далее можно проверять на предмет оптимального антитела человека. Термин "антитело" или "антитела", как применяют в настоящей заявке, также относится к агликозилированному антителу.

Термин "антитело" или "антитела", как применяют в данной заявке, относится не только к неусеченным антителам любых видов, включая полученные от человека (например, IgG) и других видов млекопитающих, но также относится к фрагменту антитела. Фрагмент антитела включает по меньшей мере одну тяжелую или одну легкую цепь домена иммуноглобулина, как известно в области техники, и связывается с одним или более антигеном(ми). Примеры фрагментов антитела в соответствии с изобретением включают Fab, Fab', F(ab')₂, и Fv, а также scFv фрагменты; а также диатела, триатела, тетратела, миниантитела, доменные антитела (dAbs), такие как sdAbs, V_HH и V_{NAR} фрагменты, одноцепочечные антитела, биспецифические, триспецифические, тетраспецифические или мультиспецифические антитела, образованные из фрагментов антител или антител, включая, но не ограничиваясь Fab-Fv или Fab-Fv-Fv конструкциями. Фрагменты антител, как определено ранее, известны в области техники.

Термин "нейтрализует", как применяют в данной заявке, относится к антителу, которое ингибирует или существенно снижает биологическое действие молекулы, с которой оно специфически связывается. Таким образом, выражение "антитело нейтрализует CSF1R" относится к антителу, которое специфически связывается с CSF1R и ингибирует или существенно снижает биологическое действие в результате связывания этого рецептора по меньшей мере с одним из его биологических лигандов. Один определенный тип антитела, которое нейтрализует CSF1R, блокирует или существенно снижает связывание по меньшей мере одного из биологических лигандов с CSF1R.

Термин "рецептор колониестимулирующего фактора-1" или "CSF1R", как применяют в данной заявке, относится к протеин-тирозинкиназе, которая действует в качестве рецептора клеточной поверхности для CSF1 и интерлейкина 34 (IL34) и играет важную роль в регуляции выживаемости, пролиферации и дифференцировки кроветворных клеток-предшественников, особенно мононуклеарных фагоцитов, таких как макрофаги и моноциты. Он вызывает высвобождение провоспалительных цитокинов в ответ на IL34 и CSF1 и, таким образом, играет важную роль в генетически преддетерминированном иммунитете и в воспалительных процессах. CSF1R также играет важную роль в регуляции пролиферации и дифференцировки остеокластов, а также в регуляции резорбции костной ткани и является необходимым для нормального развития костей и зубов. CSF1R является необходимым для нормальной фертильности мужчин и женщин, а также для нормального развития млечных протоков и акциозных структур в молочной железе во время беременности. Также он вызывает реорганизацию актинового цитоскелета, регулирует образование мембранных складок, адгезию клеток и миграцию клеток, а также вызывает инвазию раковых клеток.

CSF1 представляет собой цитокин, который контролирует образование, дифференцировку и функцию макрофагов, и CSF1R медирует большую часть, если не все биологические действия этого цитокина.

Термин "Ab969.g2", как применяют в данной заявке, обозначает антитело, специфически связывающееся с CSF1-R и включающее (a) легкую цепь, включающую CDR1, CDR2 и CDR3 в соответствии с SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2 и SEQ ID NO: 3 соответственно, и (b) тяжелую цепь, включающую CDR1, CDR2 и CDR3 в соответствии с SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5 и SEQ ID NO: 6 соответственно. Это Ab969.g2 антитело было ранее описано в заявке PCT/EP2014/068050.

Термины "специфически связывается с CSF1R", "специфическое связывание с CSF1R" и аналогичные, как применяют в данной заявке, при упоминании в отношении антитела обозначают то, что антите-

ло будет связываться с CSF1R с достаточной аффинностью и специфичностью для достижения биологически значимого эффекта. Выбираемое антитело в типичных случаях имеет аффинность связывания с CSF1R, например антитело может связываться с CSF1R и иметь величину Kd (константы диссоциации) между 100 нмоль и 1 пмоль. Аффинность антител можно определять при помощи количественного определения оснований с использованием поверхностного плазмонного резонанса, такого как, например, тест компании VIAcore; ферментного иммуносорбентного анализа (ELISA) и конкурентных анализов (например, радиоиммунного анализа, РИА (RIA)). В соответствии со смыслом настоящего изобретения антитело, которое специфически связывается с CFS1R, также может связываться с другой молекулой, например, как в случае биспецифического антитела в качестве неограничивающего примера.

Примеры

Изготавливают различные фармацевтические составы антитела Ab969.g2 в концентрации 50 мг/мл. Проверяют несколько стабилизаторов, включая сахарозу, трегалозу, маннитол, сорбитол, глицин, хлорид натрия, пролин, аланин, с целью изучения их влияния на стабильность белка при хранении.

Обычно в составе тестируют один стабилизатор, но во время проведения работы по селекции состава 21 из 110 тестируемых составов включают комбинации из двух стабилизаторов (например, глицин и хлорид натрия в 7 составах, сахароза и хлорид натрия в 7 составах, сахароза и глицин в 7 составах). 110 составов оставляют на хранение в течение 3 месяцев при температуре 5, 25 и 35°C для оценки стабильности состава.

Все составы анализируют сразу после изготовления и после 1, 2 и 3 месяцев хранения при температуре 5, 25 и 35°C с применением нескольких аналитических методов (визуального осмотра, определения pH, концентрации, метода динамического рассеяния света, эксклюзионной хроматографии, определения вариантов, отличающихся зарядами, обращенно-фазовой хроматографии). В конце трехмесячного исследования оказывается, что решающими методами анализа, которые позволяют различать все 110 составов, являются визуальный осмотр (на предмет наличия видимых признаков преципитации) и повышение концентрации агрегатов или высокомолекулярных соединений (HMWS), определяемые при помощи эксклюзионной хроматографии (SEC). Только 13 составов из протестированных 110 являются растворимыми (видимый преципитат отсутствует) во все моменты времени при критических температурах хранения 5 и 25°C. Среди тех 13 растворимых составов один, который содержит стабилизаторы в виде 125 ммоль глицина и 125 ммоль сахарозы в цитратном буфере, демонстрирует наименьшее повышение концентрации HMWS, определяемое при помощи SEC.

Синергический эффект комбинации сахарозы и глицина в составе можно представить при сравнении критических аналитических данных, полученных от составов с одним стабилизатором (либо 250 ммоль глицина, либо 250 ммоль сахарозы), с теми, которые получены от составов с комбинацией стабилизаторов.

Составы на основе глицина демонстрируют преципитацию после 2 месяцев хранения при температуре 25°C, и, таким образом, их хранение прекращается (см. табл. 1), в то время как составы, содержащие сахарозу или сахарозу+глицин, остаются в растворе после 3 месяцев хранения в любых условиях, что демонстрирует, что сахароза, применяемая в качестве единственного или в комбинации с другим стабилизатором, снижает риск видимой преципитации.

Таблица 1. Внешний вид после 2 месяцев хранения

	Сахароза 250 ммоль	Глицин 250 ммоль	Сахароза 125 ммоль+Глицин 125 ммоль
5°C	раствор	раствор	раствор
25°C	раствор	преципитат	раствор
35°C	раствор	раствор	раствор

Другим важным фактором помимо преципитации при поиске подходящего состава является образование высокомолекулярных соединений (HMWS) по причине дегградации и агрегации антитела, которые не видны невооруженным глазом. Наличие HMWS в составах определяют при помощи эксклюзионной хроматографии (SEC).

Считается, что обычно содержание до 5% HMWS при рассматриваемых условиях долгосрочного хранения лекарственного продукта согласуется с особенностями высвобождения и стабильности и, таким образом, является приемлемым.

Повышение содержания HMWS, как определяют при помощи SEC через 2 или 3 месяца, представлено соответственно в табл. 2 и 3 далее и демонстрирует, что глицин, применяемый в качестве единственного стабилизатора или в комбинации с другим стабилизатором, снижает степень повышения содержания HMWS на основании SEC.

Таблица 2. Повышение содержания HMWS, определяемое при помощи SEC после 2 месяцев хранения

	Сахароза 250 ммоль	Глицин 250 ммоль	Сахароза 125 ммоль+Глицин 125 ммоль
25°C	+1,17%	+0,88%	+0,88%
35°C	+2,89%	+2,43%	+2,42%

Таблица. Повышение содержания HMWS, определяемое при помощи SEC после 3 месяцев хранения

	Сахароза 250 ммоль	Глицин 250 ммоль	Сахароза 125 ммоль+Глицин 125 ммоль
5°C	+0,27%	Не определено	+0,2%
25°C	+1,44%	Не определено	+1,05%
35°C	+4,16%	Не определено	+3,48%

Как можно увидеть из результатов, представленных выше, состав, включающий комбинацию сахарозы и глицин, демонстрирует наименьшее повышение содержания HMWS, предоставляя приблизительно на 35% более длительный срок хранения по сравнению с составами, включающими только сахарозу. В сочетании с отсутствием видимой преципитации в течение времени для всех тестируемых условий хранения данная комбинация стабилизаторов оказывается неожиданно благоприятной для применения в жидких составах, содержащих белок, более конкретно в жидких составах, содержащих антитело.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Жидкий фармацевтический состав, включающий антитело в качестве активного ингредиента, а также глицин и сахарозу, где антитело специфически связывается с рецептором колониестимулирующего фактора-1 (CSF1R) и где антитело включает:

а) легкую цепь, включающую CDR1, CDR2 и CDR3, как определено в SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2 и SEQ ID NO: 3 соответственно; и

б) тяжелую цепь, включающую CDR1, CDR2 и CDR3, как определено в SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5 и SEQ ID NO: 6 соответственно.

2. Жидкий фармацевтический состав по п.1, включающий глицин в концентрации от 20 до 200 ммоль.

3. Жидкий фармацевтический состав по п.1 или 2, включающий сахарозу в концентрации от 20 до 200 ммоль.

4. Жидкий фармацевтический состав по любому из предшествующих пунктов формулы изобретения, включающий по меньшей мере 50 мг/мл антитела.

5. Жидкий фармацевтический состав по любому из предшествующих пунктов формулы изобретения, включающий поверхностно-активное вещество.

6. Жидкий фармацевтический состав по п.5, включающий от 0,01 до 10% Полисорбата 80.

7. Жидкий фармацевтический состав по п.1, где антитело специфически связывается с CSF1R человека.

8. Жидкий фармацевтический состав по п.7, где антитело нейтрализует CSF1R.

9. Жидкий фармацевтический состав по любому из предшествующих пунктов, где антитело представляет собой гуманизированное антитело или антитело человека.

10. Жидкий фармацевтический состав по любому из предшествующих пунктов, где антитело включает вариабельный участок легкой цепи в соответствии с SEQ ID NO: 7 и вариабельный участок тяжелой цепи в соответствии с SEQ ID NO: 11.

11. Жидкий фармацевтический состав по любому из предшествующих пунктов, включающий

40-60 ммоль цитратного буфера при pH 5;

100-150 ммоль глицина;

100-150 ммоль сахарозы;

0,02-0,1% Полисорбата 80.



Евразийская патентная организация, ЕАПВ

Россия, 109012, Москва, Малый Черкасский пер., 2