

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(21) 202090555 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2020.06.08

(51) Int. Cl. *A61K 39/395* (2006.01)
C07K 16/18 (2006.01)

(22) Дата подачи заявки
2018.08.22

(54) ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЕ КОМПОЗИЦИИ, СОДЕРЖАЩИЕ АНТИТЕЛА К БЕТА-АМИЛОИДУ

(31) 62/548,583

(32) 2017.08.22

(33) US

(86) PCT/US2018/047508

(87) WO 2019/040612 2019.02.28

(71) Заявитель:
БАЙОДЖЕН МА ИНК. (US)

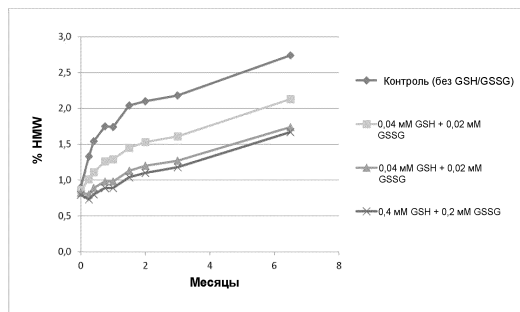
(72) Изобретатель:

Ланц Стивен Эндрю, Гупта Капил,
Сьюл Шантану, Зуник Аднан (US)

(74) Представитель:

Медведев В.Н. (RU)

(57) В изобретении предлагаются фармацевтические композиции, содержащие антитела к бета-амилоиду (A β) или их A β -связывающие фрагменты. Данные фармацевтические композиции находят применение при лечении аномального накопления или отложения A β в центральной нервной системе, умеренных когнитивных нарушений и связанных с A β расстройств, таких как болезнь Альцгеймера.



A1

202090555

202090555

A1

ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

2420-561588EA/011

ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЕ КОМПОЗИЦИИ, СОДЕРЖАЩИЕ АНТИТЕЛА К БЕТА-АМИЛОИДУ

Перекрестная ссылка на родственную заявку

Данная заявка испрашивает приоритет по предварительной заявке на патент США № 62/548583, поданной 22 августа 2017 г., содержание которой включено посредством ссылки во всей своей полноте.

Область техники

Настоящая заявка в целом относится к фармацевтическим композициям, содержащим антитела к бета-амилоиду (A β) и их применению.

Уровень техники

A β представляет собой пептид, образованный в результате метаболизма амилоидного белка-предшественника (APP). Существует несколько аллоформ A β пептида (например, A β 40 и A β 42). Такие мономерные пептиды характеризуются переменной склонностью к агрегированию в димеры и олигомеры более высокого порядка. В рамках процесса фибриллогенеза растворимые олигомеры могут переходить в нерастворимые отложения, имеющие β -складчатую структуру. Эти отложения также называют амилоидными бляшками, они состоят из преимущественно фибриллярного амилоида (Hampel et al., *Exp Neurol.*, 223(2):334-46 (2010); Gregory and Halliday, *Neurotox Res.*, 7(1-2):29-41 (2005)). Как растворимые, так и фибриллярные формы A β , по-видимому, участвуют в процессе заболевания при расстройствах, характеризующихся отложением A β , таких как болезнь Альцгеймера (БА) (Meyer-Luehmann, *J Neurosci.*, 29(40):12636-40 (2009); Hock, *Dialogues Clin Neurosci.*, 5(1):27-33 (2003); Selkoe, *Cold Spring Harb Perspect Biol.*, 3(7). pii: a004457 (2011)).

Пациенты с БА, имеющие высокие сывороточные титры антител к A β , которые распознают амилоидные бляшки, имеют более низкие показатели снижения когнитивных функций и инвалидности по сравнению с пациентами, которые не имеют антител к A β . Кроме того, у пациентов с высокими титрами антител к A β наблюдается снижение количества бляшек A β в головном мозге и улучшение когнитивных функций, оцененных после длительного наблюдения. Указанные клинические данные свидетельствуют о том, что у пациентов с БА, получавших антитела к A β в парадигме пассивной иммунотерапии, вероятно, наблюдается менее тяжелое когнитивное нарушение, снижение плотности отложений A β в мозге и снижение скорости когнитивного ухудшения.

Антитело к A β , ВПВ037, является полностью человеческим антителом, содержащим тяжелую цепь гликозилированного человеческого IgG1 и легкую цепь каппа человека. Экспрессируемое рекомбинантно, ВПВ037 связывается с высокой кажущейся аффинностью с агрегатами с высокой молекулярной массой, предположительно фибриллами, A β человека. Иммуногистохимически, ВПВ037 демонстрирует высокую аффинность связывания с бляшками A β в мозге человека с БА и в тканях мозга,

полученных от трансгенных мышей, экспрессирующих APP человека. Аффинность и специфичность ВПВ037 к высокомолекулярным агрегатам Аβ человека были подтверждены иммуноосаждением, иммуноблоттингом и иммуногистохимически. У трансгенных мышей Tg2576 БА введение ВПВ037 приводит к измеримым уровням лекарственного средства в головном мозге, оцененным с помощью ИФА. После введения ВПВ037 мышам Tg2576 иммунореактивность к ВПВ037 наблюдалась в связи с отложениями амилоида в паренхиме и сосудах мозга, что позволяет предположить, что ВПВ037 проникает в паренхиму мозга и связывается с его мишенью. Считается, что системно вводимые антитела к Аβ, такие как ВПВ037, попадают в мозг, связываются с отложениями

Аβ и запускают их выведение из мозга с помощью Fc-рецептор-зависимых механизмов. Предполагается, что опосредованное антителами удаление Аβ из мозга снижает Аβ нагрузку, предотвращая тем самым дисфункцию нейронов, замедляя развитие патологии и уменьшая показатели снижения когнитивных функций при БА.

Сущность изобретения

Данное описание относится, в частности, к фармацевтическим композициям, содержащим антитело к Аβ или его Аβ-связывающие фрагменты, и их применению для лечения аномального накопления или отложения Аβ в центральной нервной системе, легкого когнитивного нарушения и связанных с Аβ расстройств, таких как болезнь Альцгеймера.

В одном аспекте настоящее изобретение относится к фармацевтической композиции, содержащей антитело к Аβ или его Аβ-связывающий фрагмент и гидрохлорид аргинина (Arg.HCl).

В некоторых вариантах осуществления антитело к Аβ или его Аβ-связывающий фрагмент содержат переменный домен тяжелой цепи (VH) иммуноглобулина и переменный домен легкой цепи (VL) иммуноглобулина, причем VH и VL содержат CDR ВПВ037. В некоторых вариантах осуществления шесть CDR ВПВ037 содержат или состоят из аминокислотных последовательностей, указанных в SEQ ID NO:1; SEQ ID NO:2; SEQ ID NO:3; SEQ ID NO:4; SEQ ID NO:5; и SEQ ID NO:6.

В некоторых вариантах осуществления композиция содержит антитело к Аβ или его Аβ-связывающий фрагмент в концентрации от 50 мг/мл до 250 мг/мл. В других вариантах осуществления композиция содержит антитело к Аβ или его Аβ-связывающий фрагмент в концентрации от 75 мг/мл до 165 мг/мл. В определенных вариантах осуществления композиция содержит антитело к Аβ или его Аβ-связывающий фрагмент в концентрации 150 мг/мл. В определенных вариантах осуществления композиция содержит антитело к Аβ или его Аβ-связывающий фрагмент в концентрации 100 мг/мл.

В некоторых вариантах осуществления композиция содержит Arg.HCl в концентрации от 50 мМ до 250 мМ. В других вариантах осуществления композиция содержит Arg.HCl в концентрации от 75 мМ до 175 мМ. В определенных вариантах осуществления композиция содержит Arg.HCl в концентрации 150 мМ.

В некоторых вариантах осуществления композиция дополнительно содержит сахарозу. В некоторых вариантах осуществления композиция содержит сахарозу в концентрации от 0,01% до 5%. В других вариантах осуществления композиция содержит сахарозу в концентрации от 1% до 4%. В определенных вариантах осуществления композиция содержит сахарозу в концентрации 3%.

В некоторых вариантах осуществления композиция имеет рН от 5,2 до 6,2. В определенных вариантах осуществления композиция имеет рН от 5,2 до 6,0. В определенных вариантах осуществления композиция имеет рН от 5,3 до 5,7. В других вариантах осуществления композиция имеет рН 5,5.

В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит антитело к Аβ или его Аβ-связывающий фрагмент в концентрации от 50 мг/мл до 250 мг/мл; Arg.HCl в концентрации от 50 мМ до 200 мМ; метионин в концентрации от 0 мМ до 20 мМ; гистидин в концентрации от 10 мМ до 30 мМ; PS80 в концентрации от 0,01% до 0,1%; и сахарозу в концентрации от 0 до 3%. В некоторых случаях данная композиция имеет рН от 5,2 до 6,2. В некоторых случаях данная композиция имеет рН от 5,2 до 6,0. В определенных вариантах осуществления композиция имеет рН от 5,3 до 5,7. В других вариантах осуществления композиция имеет рН 5,5.

В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит антитело к Аβ или его Аβ-связывающий фрагмент в концентрации 150 мг/мл; Arg.HCl в концентрации 150 мМ; метионин в концентрации 10 мМ; гистидин в концентрации 20 мМ; и PS80 в концентрации 0,05%. В некоторых случаях данная композиция имеет рН от 5,2 до 6,2. В некоторых случаях данная композиция имеет рН от 5,2 до 6,0. В определенных вариантах осуществления композиция имеет рН от 5,3 до 5,7. В других вариантах осуществления композиция имеет рН 5,5.

В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит антитело к Аβ или его Аβ-связывающий фрагмент в концентрации 100 мг/мл; Arg.HCl в концентрации 150 мМ; метионин в концентрации 10 мМ; гистидин в концентрации 20 мМ; и PS80 в концентрации 0,05%. В некоторых случаях данная композиция имеет рН от 5,2 до 6,2. В некоторых случаях данная композиция имеет рН от 5,2 до 6,0. В определенных вариантах осуществления композиция имеет рН от 5,3 до 5,7. В других вариантах осуществления композиция имеет рН 5,5.

В некоторых вариантах осуществления VH содержит или состоит из последовательности по меньшей мере на 80% идентичной SEQ ID NO: 7, и VL содержит или состоит из последовательности по меньшей мере на 80% идентичной SEQ ID NO: 8. В некоторых вариантах осуществления VH содержит или состоит из последовательности по меньшей мере на 90% идентичной SEQ ID NO: 7, и VL содержит или состоит из последовательности по меньшей мере на 90% идентичной SEQ ID NO: 8. В некоторых вариантах осуществления VH содержит или состоит из последовательности SEQ ID NO: 7, и VL содержит или состоит из последовательности SEQ ID NO: 8.

В некоторых вариантах осуществления антитело к Аβ содержит тяжелую цепь

иммуноглобулина и легкую цепь иммуноглобулина. В определенных случаях тяжелая цепь содержит или состоит из последовательности по меньшей мере на 80% идентичной SEQ ID NO: 9, и легкая цепь содержит или состоит из последовательности по меньшей мере на 80% идентичной SEQ ID NO: 10. В других случаях тяжелая цепь содержит или состоит из последовательности по меньшей мере на 90% идентичной последовательности SEQ ID NO: 9, и легкая цепь содержит или состоит из последовательности по меньшей мере на 90% идентичной последовательности SEQ ID NO: 10. В других случаях тяжелая цепь содержит или состоит из последовательности SEQ ID NO: 9, и легкая цепь содержит или состоит из последовательности SEQ ID NO: 10.

В другом аспекте настоящее изобретение относится к способу лечения аномального накопления или отложения А β в центральной нервной системе у нуждающегося в этом субъекта-человека. Способ включает введение субъекту-человеку фармацевтической композиции, описанной в настоящем документе.

В другом аспекте настоящее изобретение относится к способу лечения умеренного когнитивного нарушения у нуждающегося в этом субъекта-человека. Способ включает введение субъекту-человеку фармацевтической композиции, описанной в настоящем документе.

В другом аспекте настоящее изобретение относится к способу лечения болезни Альцгеймера у нуждающегося в этом субъекта-человека. Способ включает введение субъекту-человеку фармацевтической композиции, описанной в настоящем документе.

В некоторых вариантах осуществления этих аспектов фармацевтическую композицию вводят субъекту-человеку подкожно. В некоторых вариантах осуществления этих аспектов фармацевтическую композицию вводят субъекту-человеку внутривенно.

В другом аспекте настоящее изобретение относится к фармацевтической композиции, содержащей антитело к А β или его А β -связывающий фрагмент, тиолсодержащий антиоксидант и гидрохлорид аргинина (Arg.HCl).

В некоторых вариантах осуществления антитело к А β или его А β -связывающий фрагмент содержат переменный домен тяжелой цепи (VH) иммуноглобулина и переменный домен легкой цепи (VL) иммуноглобулина, причем VH и VL содержат CDR В1В037. В некоторых вариантах осуществления шесть CDR В1В037 содержат или состоят из аминокислотных последовательностей, указанных в SEQ ID NO:1; SEQ ID NO:2; SEQ ID NO:3; SEQ ID NO:4; SEQ ID NO:5; и SEQ ID NO:6.

В некоторых вариантах осуществления композиция содержит антитело к А β или его А β -связывающий фрагмент в концентрации от 50 мг/мл до 250 мг/мл. В других вариантах осуществления композиция содержит антитело к А β или его А β -связывающий фрагмент в концентрации от 75 мг/мл до 165 мг/мл. В определенных вариантах осуществления композиция содержит антитело к А β или его А β -связывающий фрагмент в концентрации 150 мг/мл. В определенных вариантах осуществления композиция содержит антитело к А β или его А β -связывающий фрагмент в концентрации 100 мг/мл.

В некоторых вариантах осуществления тиолсодержащий антиоксидант в

композиции выбран из группы, состоящей из GSH, GSSG, комбинации GSH и GSSG, цистина, цистеина и комбинации цистеина и цистина. В определенных случаях тиолсодержащий антиоксидант представляет собой GSH. В определенных случаях тиолсодержащий антиоксидант представляет собой GSSG. В определенных случаях тиолсодержащий антиоксидант представляет собой GSH и GSSG. В определенных вариантах осуществления тиолсодержащий антиоксидант содержится в концентрации от 0,02 мМ до 4 мМ. В определенных вариантах осуществления тиолсодержащий антиоксидант содержится в концентрации от 0,02 мМ до 2 мМ. В определенных вариантах осуществления тиолсодержащий антиоксидант содержится в концентрации 0,2 мМ. В определенных вариантах осуществления тиолсодержащий антиоксидант содержится в концентрации 0,4 мМ. В определенных вариантах осуществления тиолсодержащий антиоксидант содержится в концентрации 1 мМ. В определенных вариантах осуществления тиолсодержащий антиоксидант содержится в концентрации 2 мМ. В определенных вариантах осуществления тиолсодержащий антиоксидант содержится в концентрации 4 мМ. В определенных случаях тиолсодержащий антиоксидант в композиции представляет собой GSH и содержится в концентрации 0,4 мМ, и GSSG и содержится в концентрации 0,2 мМ. В определенных случаях тиолсодержащий антиоксидант в композиции представляет собой GSH и содержится в концентрации 4 мМ, и GSSG и содержится в концентрации 2 мМ. В определенных случаях тиолсодержащий антиоксидант в композиции представляет собой GSH и содержится в концентрации 2 мМ, и GSSG и содержится в концентрации 1 мМ. В определенных случаях тиолсодержащий антиоксидант в композиции представляет собой цистеин и содержится в концентрации 0,4 мМ и цистин и содержится в концентрации 0,2 мМ.

В некоторых вариантах осуществления композиция содержит Arg.HCl в концентрации от 50 мМ до 250 мМ. В других вариантах осуществления композиция содержит Arg.HCl в концентрации от 75 мМ до 175 мМ. В определенных вариантах осуществления композиция содержит Arg.HCl в концентрации 150 мМ.

В некоторых вариантах осуществления композиция дополнительно содержит полисорбат-80 (PS80). В некоторых вариантах осуществления композиция содержит PS80 в концентрации от 0,01% до 0,1%. В других вариантах осуществления композиция содержит PS80 в концентрации от 0,03% до 0,08%. В определенных вариантах осуществления композиция содержит PS80 в концентрации 0,05%.

В некоторых вариантах осуществления композиция дополнительно содержит буфер, выбранный из группы, состоящей из гистидина, ацетата, сукцината или цитрата. В определенных случаях буфер представляет собой гистидин. В определенных случаях буфер представляет собой ацетат. В определенных случаях буфер представляет собой сукцинат. В определенных случаях буфер представляет собой цитрат. В определенных вариантах осуществления композиция содержит гистидин, ацетат, сукцинат или цитрат в концентрации от 10 мМ до 30 мМ. В определенных вариантах осуществления композиция содержит гистидин, ацетат, сукцинат или цитрат в концентрации 20 мМ. В определенных

вариантах осуществления композиция содержит гистидин в концентрации от 10 мМ до 30 мМ. В определенных вариантах осуществления композиция содержит гистидин в концентрации 20 мМ.

В некоторых вариантах осуществления композиция дополнительно содержит сахарозу. В некоторых вариантах осуществления композиция содержит сахарозу в концентрации от 0,01% до 5%. В других вариантах осуществления композиция содержит сахарозу в концентрации от 1% до 4%. В определенных вариантах осуществления композиция содержит сахарозу в концентрации 3%.

В некоторых вариантах осуществления композиция дополнительно содержит метионин. В некоторых вариантах осуществления композиция содержит метионин в концентрации от 0,01 мМ до 150 мМ. В некоторых вариантах осуществления композиция содержит метионин в концентрации от 0,01 мМ до 125 мМ. В некоторых вариантах осуществления композиция содержит метионин в концентрации от 0,01 мМ до 100 мМ. В некоторых вариантах осуществления композиция содержит метионин в концентрации от 0,01 мМ до 75 мМ. В некоторых вариантах осуществления композиция содержит метионин в концентрации от 0,01 мМ до 50 мМ. В некоторых вариантах осуществления композиция содержит метионин в концентрации от 0,01 мМ до 20 мМ. В других вариантах осуществления композиция содержит метионин в концентрации от 5 мМ до 15 мМ. В других вариантах осуществления композиция содержит метионин в концентрации от 5 мМ до 50 мМ. В других вариантах осуществления композиция содержит метионин в концентрации от 5 мМ до 75 мМ. В других вариантах осуществления композиция содержит метионин в концентрации от 5 мМ до 100 мМ. В других вариантах осуществления композиция содержит метионин в концентрации от 5 мМ до 125 мМ. В других вариантах осуществления композиция содержит метионин в концентрации от 5 мМ до 150 мМ. В определенных вариантах осуществления композиция содержит метионин в концентрации 10 мМ. В определенных вариантах осуществления композиция содержит метионин в концентрации 50 мМ. В определенных вариантах осуществления композиция содержит метионин в концентрации 75 мМ. В определенных вариантах осуществления композиция содержит метионин в концентрации 100 мМ. В определенных вариантах осуществления композиция содержит метионин в концентрации 125 мМ. В определенных вариантах осуществления композиция содержит метионин в концентрации 150 мМ. В некоторых вариантах осуществления композиция имеет рН от 5,2 до 6,2. В определенных вариантах осуществления композиция имеет рН от 5,2 до 6,0. В определенных вариантах осуществления композиция имеет рН от 5,3 до 5,7. В других вариантах осуществления композиция имеет рН 5,5.

В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит антитело к Аβ или его Аβ-связывающий фрагмент в концентрации от 50 мг/мл до 250 мг/мл; тиолсодержащий антиоксидант в концентрации от 0,02 мМ до 4 мМ; Arg.HCl в концентрации от 50 мМ до 200 мМ; гистидин в концентрации от 10 до 30 мМ; PS80 в концентрации от 0,01% до 0,1%; и сахарозу в концентрации от 0 до 3%. В

некоторых случаях данная композиция имеет рН от 5,2 до 6,2. В некоторых случаях данная композиция имеет рН от 5,2 до 6,0. В определенных вариантах осуществления композиция имеет рН от 5,3 до 5,7. В других вариантах осуществления композиция имеет рН 5,5. В некоторых случаях тиолсодержащий антиоксидант выбран из группы, состоящей из GSH, GSSG, комбинации GSH и GSSG, цистина, цистеина и комбинации цистеина и цистина. В некоторых случаях тиолсодержащий антиоксидант представляет собой GSH. В некоторых случаях тиолсодержащий антиоксидант представляет собой GSSG. В некоторых случаях тиолсодержащий антиоксидант представляет собой комбинацию GSH и GSSG.

В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит антитело к Аβ или его Аβ-связывающий фрагмент в концентрации 150 мг/мл; Arg.HCl в концентрации 150 мМ; тиолсодержащий антиоксидант в концентрации от 0,02 мМ до 4 мМ; гистидин в концентрации 20 мМ; и PS80 в концентрации 0,05%. В некоторых случаях данная композиция имеет рН от 5,2 до 6,2. В некоторых случаях данная композиция имеет рН от 5,2 до 6,0. В определенных вариантах осуществления композиция имеет рН от 5,3 до 5,7. В других вариантах осуществления композиция имеет рН 5,5. В некоторых случаях тиолсодержащий антиоксидант выбран из группы, состоящей из GSH, GSSG, комбинации GSH и GSSG, цистина, цистеина и комбинации цистеина и цистина. В некоторых случаях тиолсодержащий антиоксидант представляет собой GSH. В некоторых случаях тиолсодержащий антиоксидант представляет собой GSSG. В некоторых случаях тиолсодержащий антиоксидант представляет собой комбинацию GSH и GSSG.

В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит антитело к Аβ или его Аβ-связывающий фрагмент в концентрации 100 мг/мл; Arg.HCl в концентрации 150 мМ; тиолсодержащий антиоксидант в концентрации от 0,02 мМ до 4 мМ; гистидин в концентрации 20 мМ; и PS80 в концентрации 0,05%. В некоторых случаях данная композиция имеет рН от 5,2 до 6,2. В некоторых случаях данная композиция имеет рН от 5,2 до 6,0. В определенных вариантах осуществления композиция имеет рН от 5,3 до 5,7. В других вариантах осуществления композиция имеет рН 5,5. В некоторых случаях тиолсодержащий антиоксидант выбран из группы, состоящей из GSH, GSSG, комбинации GSH и GSSG, цистина, цистеина и комбинации цистеина и цистина. В некоторых случаях тиолсодержащий антиоксидант представляет собой GSH. В некоторых случаях тиолсодержащий антиоксидант представляет собой GSSG. В некоторых случаях тиолсодержащий антиоксидант представляет собой комбинацию GSH и GSSG.

В некоторых вариантах осуществления VH содержит или состоит из последовательности по меньшей мере на 80% идентичной SEQ ID NO: 7, и VL содержит или состоит из последовательности по меньшей мере на 80% идентичной SEQ ID NO: 8. В некоторых вариантах осуществления VH содержит или состоит из последовательности по меньшей мере на 90% идентичной SEQ ID NO: 7, и VL содержит или состоит из

последовательности по меньшей мере на 90% идентичной SEQ ID NO: 8. В некоторых вариантах осуществления VH содержит или состоит из последовательности SEQ ID NO: 7, и VL содержит или состоит из последовательности SEQ ID NO: 8.

В некоторых вариантах осуществления антитело к Аβ содержит тяжелую цепь иммуноглобулина и легкую цепь иммуноглобулина. В определенных случаях тяжелая цепь содержит или состоит из последовательности по меньшей мере на 80% идентичной SEQ ID NO: 9, и легкая цепь содержит или состоит из последовательности по меньшей мере на 80% идентичной SEQ ID NO: 10. В других случаях тяжелая цепь содержит или состоит из последовательности по меньшей мере на 90% идентичной последовательности SEQ ID NO: 9, и легкая цепь содержит или состоит из последовательности по меньшей мере на 90% идентичной последовательности SEQ ID NO: 10. В других случаях тяжелая цепь содержит или состоит из последовательности SEQ ID NO: 9, и легкая цепь содержит или состоит из последовательности SEQ ID NO: 10.

В другом аспекте настоящее изобретение относится к фармацевтической композиции, содержащей антитело к Аβ или его Аβ-связывающий фрагмент, тиолсодержащий антиоксидант, метионин и гидрохлорид аргинина (Arg.HCl).

В некоторых вариантах осуществления антитело к Аβ или его Аβ-связывающий фрагмент содержат переменный домен тяжелой цепи (VH) иммуноглобулина и переменный домен легкой цепи (VL) иммуноглобулина, причем VH и VL содержат CDR В1В037. В некоторых вариантах осуществления шесть CDR В1В037 содержат или состоят из аминокислотных последовательностей, указанных в SEQ ID NO:1; SEQ ID NO:2; SEQ ID NO:3; SEQ ID NO:4; SEQ ID NO:5; и SEQ ID NO:6.

В некоторых вариантах осуществления композиция содержит антитело к Аβ или его Аβ-связывающий фрагмент в концентрации от 50 мг/мл до 250 мг/мл. В других вариантах осуществления композиция содержит антитело к Аβ или его Аβ-связывающий фрагмент в концентрации от 75 мг/мл до 165 мг/мл. В определенных вариантах осуществления композиция содержит антитело к Аβ или его Аβ-связывающий фрагмент в концентрации 150 мг/мл. В определенных вариантах осуществления композиция содержит антитело к Аβ или его Аβ-связывающий фрагмент в концентрации 100 мг/мл.

В некоторых вариантах осуществления тиолсодержащий антиоксидант в композиции выбран из группы, состоящей из GSH, GSSG, комбинации GSH и GSSG, цистина, цистеина и комбинации цистеина и цистина. В определенных случаях тиолсодержащий антиоксидант представляет собой GSH. В определенных случаях тиолсодержащий антиоксидант представляет собой GSSG. В определенных случаях тиолсодержащий антиоксидант представляет собой GSH и GSSG. В определенных вариантах осуществления тиолсодержащий антиоксидант содержится в концентрации от 0,02 мМ до 4 мМ. В определенных вариантах осуществления тиолсодержащий антиоксидант содержится в концентрации от 0,02 мМ до 2 мМ. В определенных вариантах осуществления тиолсодержащий антиоксидант содержится в концентрации 0,2 мМ. В определенных вариантах осуществления тиолсодержащий антиоксидант содержится в

В некоторых вариантах осуществления композиция дополнительно содержит полисорбат-80 (PS80). В некоторых вариантах осуществления композиция содержит PS80 в концентрации от 0,01% до 0,1%. В других вариантах осуществления композиция содержит PS80 в концентрации от 0,03% до 0,08%. В определенных вариантах осуществления композиция содержит PS80 в концентрации 0,05%.

В некоторых вариантах осуществления композиция дополнительно содержит буфер, выбранный из группы, состоящей из гистидина, ацетата, сукцината или цитрата. В определенных случаях буфер представляет собой гистидин. В определенных случаях буфер представляет собой ацетат. В определенных случаях буфер представляет собой сукцинат. В определенных случаях буфер представляет собой цитрат. В определенных вариантах осуществления композиция содержит гистидин, ацетат, сукцинат или цитрат в концентрации от 10 мМ до 30 мМ. В определенных вариантах осуществления композиция содержит гистидин, ацетат, сукцинат или цитрат в концентрации 20 мМ. В определенных вариантах осуществления композиция содержит гистидин в концентрации от 10 мМ до 30 мМ. В определенных вариантах осуществления композиция содержит гистидин в концентрации 20 мМ.

В некоторых вариантах осуществления композиция дополнительно содержит сахарозу. В некоторых вариантах осуществления композиция содержит сахарозу в концентрации от 0,01% до 5%. В других вариантах осуществления композиция содержит сахарозу в концентрации от 1% до 4%. В определенных вариантах осуществления композиция содержит сахарозу в концентрации 3%.

В некоторых вариантах осуществления композиция имеет pH от 5,2 до 6,2. В определенных вариантах осуществления композиция имеет pH от 5,2 до 6,0. В определенных вариантах осуществления композиция имеет pH от 5,3 до 5,7. В других вариантах осуществления композиция имеет pH 5,5.

В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит антитело к Аβ или его Аβ-связывающий фрагмент в концентрации от 50 мг/мл до 250 мг/мл; тиолсодержащий антиоксидант в концентрации от 0,02 мМ до 4 мМ; метионин в концентрации от 5 мМ до 150 мМ; Arg.HCl в концентрации от 50 мМ до 200 мМ; гистидин в концентрации от 10 мМ до 30 мМ; PS80 в концентрации от 0,01% до 0,1%; и сахарозу в концентрации от 0 до 3%. В некоторых случаях данная композиция имеет pH от 5,2 до 6,2. В некоторых случаях данная композиция имеет pH от 5,2 до 6,0. В определенных вариантах осуществления композиция имеет pH от 5,3 до 5,7. В других вариантах осуществления композиция имеет pH 5,5. В некоторых случаях тиолсодержащий антиоксидант выбран из группы, состоящей из GSH, GSSG, комбинации GSH и GSSG, цистина, цистеина и комбинации цистеина и цистина. В некоторых случаях тиолсодержащий антиоксидант представляет собой GSH. В некоторых случаях тиолсодержащий антиоксидант представляет собой GSSG. В некоторых случаях тиолсодержащий антиоксидант представляет собой комбинацию GSH и GSSG.

В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция

содержит антитело к Аβ или его Аβ-связывающий фрагмент в концентрации 150 мг/мл; Arg.HCl в концентрации 150 мМ; тиолсодержащий антиоксидант в концентрации от 0,02 мМ до 4 мМ; метионин в концентрации 10 мМ; гистидин в концентрации 20 мМ; и PS80 в концентрации 0,05%. В некоторых случаях данная композиция имеет рН от 5,2 до 6,2. В некоторых случаях данная композиция имеет рН от 5,2 до 6,0. В определенных вариантах осуществления композиция имеет рН от 5,3 до 5,7. В других вариантах осуществления композиция имеет рН 5,5. В некоторых случаях тиолсодержащий антиоксидант выбран из группы, состоящей из GSH, GSSG, комбинации GSH и GSSG, цистина, цистеина и комбинации цистеина и цистина. В некоторых случаях тиолсодержащий антиоксидант представляет собой GSH. В некоторых случаях тиолсодержащий антиоксидант представляет собой GSSG. В некоторых случаях тиолсодержащий антиоксидант представляет собой комбинацию GSH и GSSG.

В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит антитело к Аβ или его Аβ-связывающий фрагмент в концентрации 150 мг/мл; Arg.HCl в концентрации 150 мМ; тиолсодержащий антиоксидант в концентрации от 0,02 мМ до 4 мМ; метионин в концентрации 150 мМ; гистидин в концентрации 20 мМ; и PS80 в концентрации 0,05%. В некоторых случаях данная композиция имеет рН от 5,2 до 6,2. В некоторых случаях данная композиция имеет рН от 5,2 до 6,0. В определенных вариантах осуществления композиция имеет рН от 5,3 до 5,7. В других вариантах осуществления композиция имеет рН 5,5. В некоторых случаях тиолсодержащий антиоксидант выбран из группы, состоящей из GSH, GSSG, комбинации GSH и GSSG, цистина, цистеина и комбинации цистеина и цистина. В некоторых случаях тиолсодержащий антиоксидант представляет собой GSH. В некоторых случаях тиолсодержащий антиоксидант представляет собой GSSG. В некоторых случаях тиолсодержащий антиоксидант представляет собой комбинацию GSH и GSSG.

В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит антитело к Аβ или его Аβ-связывающий фрагмент в концентрации 100 мг/мл; Arg.HCl в концентрации 150 мМ; тиолсодержащий антиоксидант в концентрации от 0,02 мМ до 4 мМ; метионин в концентрации 10 мМ; гистидин в концентрации 20 мМ; и PS80 в концентрации 0,05%. В некоторых случаях данная композиция имеет рН от 5,2 до 6,2. В некоторых случаях данная композиция имеет рН от 5,2 до 6,0. В определенных вариантах осуществления композиция имеет рН от 5,3 до 5,7. В других вариантах осуществления композиция имеет рН 5,5. В некоторых случаях тиолсодержащий антиоксидант выбран из группы, состоящей из GSH, GSSG, комбинации GSH и GSSG, цистина, цистеина и комбинации цистеина и цистина. В некоторых случаях тиолсодержащий антиоксидант представляет собой GSH. В некоторых случаях тиолсодержащий антиоксидант представляет собой GSSG. В некоторых случаях тиолсодержащий антиоксидант представляет собой комбинацию GSH и GSSG.

В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит антитело к Аβ или его Аβ-связывающий фрагмент в концентрации 100 мг/мл;

Arg.HCl в концентрации 150 мМ; тиолсодержащий антиоксидант в концентрации от 0,02 мМ до 4 мМ; метионин в концентрации 150 мМ; гистидин в концентрации 20 мМ; и PS80 в концентрации 0,05%. В некоторых случаях данная композиция имеет рН от 5,2 до 6,2. В некоторых случаях данная композиция имеет рН от 5,2 до 6,0. В определенных вариантах осуществления композиция имеет рН от 5,3 до 5,7. В других вариантах осуществления композиция имеет рН 5,5. В некоторых случаях тиолсодержащий антиоксидант выбран из группы, состоящей из GSH, GSSG, комбинации GSH и GSSG, цистина, цистеина и комбинации цистеина и цистина. В некоторых случаях тиолсодержащий антиоксидант представляет собой GSH. В некоторых случаях тиолсодержащий антиоксидант представляет собой GSSG. В некоторых случаях тиолсодержащий антиоксидант представляет собой комбинацию GSH и GSSG.

В некоторых вариантах осуществления VH содержит или состоит из последовательности по меньшей мере на 80% идентичной SEQ ID NO: 7, и VL содержит или состоит из последовательности по меньшей мере на 80% идентичной SEQ ID NO: 8. В некоторых вариантах осуществления VH содержит или состоит из последовательности по меньшей мере на 90% идентичной SEQ ID NO: 7, и VL содержит или состоит из последовательности по меньшей мере на 90% идентичной SEQ ID NO: 8. В некоторых вариантах осуществления VH содержит или состоит из последовательности SEQ ID NO: 7, и VL содержит или состоит из последовательности SEQ ID NO: 8.

В некоторых вариантах осуществления антитело к A β содержит тяжелую цепь иммуноглобулина и легкую цепь иммуноглобулина. В определенных случаях тяжелая цепь содержит или состоит из последовательности по меньшей мере на 80% идентичной SEQ ID NO: 9, и легкая цепь содержит или состоит из последовательности по меньшей мере на 80% идентичной SEQ ID NO: 10. В других случаях тяжелая цепь содержит или состоит из последовательности по меньшей мере на 90% идентичной последовательности SEQ ID NO: 9, и легкая цепь содержит или состоит из последовательности по меньшей мере на 90% идентичной последовательности SEQ ID NO: 10. В других случаях тяжелая цепь содержит или состоит из последовательности SEQ ID NO: 9, и легкая цепь содержит или состоит из последовательности SEQ ID NO: 10.

В другом аспекте настоящее изобретение относится к способу лечения аномального накопления или отложения A β в центральной нервной системе у нуждающегося в этом субъекта-человека. Способ включает введение субъекту-человеку фармацевтической композиции, описанной в настоящем документе.

В другом аспекте настоящее изобретение относится к способу лечения умеренного когнитивного нарушения у нуждающегося в этом субъекта-человека. Способ включает введение субъекту-человеку фармацевтической композиции, описанной в настоящем документе.

В другом аспекте настоящее изобретение относится к способу лечения болезни Альцгеймера у нуждающегося в этом субъекта-человека. Способ включает введение субъекту-человеку фармацевтической композиции, описанной в настоящем документе.

В некоторых вариантах осуществления этих аспектов фармацевтическую композицию вводят субъекту-человеку подкожно. В некоторых вариантах осуществления этих аспектов фармацевтическую композицию вводят субъекту-человеку внутривенно.

Если не указано иное, все технические и научные термины, используемые в данном документе, имеют то же значение, которое обычно понимают специалисты в области техники, к которой относится данное изобретение. Хотя способы и материалы, аналогичные или эквивалентные тем, которые описываются в данном документе, могут применяться на практике или при испытании настоящего изобретения, иллюстративные способы и материалы описаны ниже. Все публикации, заявки на патенты, патенты и другие ссылки, упоминаемые в данном документе, включены посредством ссылки во всей своей полноте. В случае противоречия настоящая заявка, включающая определения, будет иметь преимущественную силу. Материалы, способы и примеры являются исключительно иллюстративными и не предназначены для ограничения.

Другие признаки и преимущества настоящего изобретения будут очевидны из следующего подробного описания и из формулы изобретения.

Краткое описание графических материалов

На Фиг. 1 столбчатая диаграмма, изображает % НМВ для указанных составов, хранящихся при 40°C в течение 4 недель.

На Фиг. 2 представлен график, изображающий % НМВ для указанных составов, хранящихся при 40°C в течение 6 недель.

На Фиг. 3 представлен график, изображающий тренды % НМВ при изменении рН при хранении при 25 °C+60% относительной влажности.

На Фиг. 4 представлен график, изображающий тренды% НМВ для различных вспомогательных веществ при хранении при 25 °C+60% относительной влажности.

На Фиг. 5 столбчатая диаграмма, изображает вязкость для составов при 20 ° C.

На Фиг. 6 столбчатая диаграмма, изображает результаты % НМВ для составов с полисорбатом-80 через 72 ч при комнатной температуре.

На Фиг. 7 представлен график, изображающий влияние комбинации GSH и GSSG на стабильность составов адуканумаба при 25 °C и относительной влажности 60%.

На Фиг. 8 представлен график, изображающий влияние комбинации цистеина и цистина на стабильность составов адуканумаба при 25 °C и относительной влажности 60%.

На Фиг. 9 представлен график, показывающий, что восстановленная форма тиолсодержащего вспомогательного вещества оказывает такое же влияние на стабильность при 25 °C и относительной влажности 60%, что и окислительно-восстановительная пара.

На Фиг. 10 представлен график, иллюстрирующий, что метионин обеспечивает ограниченное преимущество в сочетании с GSH в отношении стабильности составов адуканумаба при 25 °C и относительной влажности 60%.

На Фиг. 11 представлена пара графиков, показывающих влияние различных

концентраций антител и GSH на стабильность при 25°C и относительной влажности 60%.

На Фиг. 12 представлена пара графиков, показывающих, что даже низкие концентрации GSH могут улучшить стабильность HMW.

На Фиг. 13 представлен график, показывающий, что GSH при 4 мМ оказывает такое же влияние на снижение количества HMW, что и GSH с 0,5 мМ до 2 мМ.

На Фиг. 14 представлена пара графиков, показывающих влияние увеличения метионина на количество HMW при 25 °C (вверху) и 40 °C (внизу).

Подробное описание сущности изобретения

В данной заявке предлагаются фармацевтические композиции, содержащие антитела к Аβ и их Аβ-связывающие фрагменты, и их применение для лечения аномального накопления или отложения Аβ в центральной нервной системе, легкого когнитивного нарушения и расстройств, связанных с Аβ (например, болезни Альцгеймера).

Бета-амилоид (Аβ или Abeta)

Пептид Аβ является важным фактором риска и играет центральную роль в возникновении и прогрессировании болезни Альцгеймера. Аβ вырабатывается у нормальных людей, но при некоторых обстоятельствах эта молекула агрегирует, что приводит к прогрессированию заболевания.

Аβ обозначает пептиды из 36-43 аминокислот, которые участвуют в образовании амилоидных бляшек, обнаруживаемых в мозге пациентов с болезнью Альцгеймера. Подобные бляшки появляются в некоторых вариантах деменции тела Леви и при миозите тела включения. Аβ также образует агрегаты, которые покрывают сосуды головного мозга при церебральной амилоидной ангиопатии.

Пептиды Аβ образуются путем расщепления белка-предшественника амилоида (APP) ферментами бета-секретазой и гамма-секретазой. Молекулы Аβ могут агрегировать с образованием гибких растворимых олигомеров, которые могут существовать в нескольких формах. Существует несколько аллоформ Аβ-пептида, Аβ40 и Аβ42. Аминокислотная последовательность β-пептида амилоида человека (1-40) представлена ниже:

DAEFRHDSGYEVNHQKLVFFAEDVGSNKGAIIGLMVGGVV (SEQ ID NO:11)

Аминокислотная последовательность β-пептида амилоида человека (1-42) представлена ниже:

DAEFRHDSGYEVNHQKLVFFAEDVGSNKGAIIGLMVGGVVIA (SEQ ID NO:12)

Считается, что растворимые олигомерные формы пептида Аβ являются причинами развития болезни Альцгеймера.

Антитела к Аβ

В некоторых вариантах осуществления антитело к Аβ или его Аβ-связывающий фрагмент, используемые в композициях и способах, описанных в настоящем документе, содержат три определяющие комплементарность области (CDR) варибельного домена тяжелой цепи антитела, обозначаемого как «ВНВ037» или как адуканумаб. В некоторых

вариантах осуществления антитело к Аβ или его Аβ-связывающий фрагмент содержат три CDR варибельного домена легкой цепи ВІІВ037. В других вариантах осуществления антитело к Аβ или его Аβ-связывающий фрагмент содержит три CDR варибельного домена тяжелой цепи и три CDR варибельного домена легкой цепи ВІІВ037.

ВІІВ037 представляет собой полностью человеческое антитело, содержащее гликозилированную тяжелую цепь IgG1 человека и легкую цепь каппа человека. ВІІВ037 состоит из аминокислотной последовательности зрелой тяжелой цепи, изображенной в SEQ ID NO: 9, и аминокислотной последовательности зрелой легкой цепи, изображенной в SEQ ID NO: 10.

VH и VL ВІІВ037 имеют аминокислотные последовательности, которые идентичны аминокислотной последовательности VH и VL антитела NI-101.12F6A, описанной в патенте США № 8906367 (см. Таблицы 2-4; включены посредством ссылки в полном объеме в данное описание). В частности, антитело ВІІВ037 имеет антигенсвязывающий домен, содержащий варибельные области VH и VL, представленные в **Таблице 1** (VH) и **Таблице 2** (VL), соответствующие определяющие комплементарность области (CDR), представленные в **Таблице 3**, и тяжелые и легкие цепи, представленные в **Таблице 4** (H) и **Таблице 5** (L).

Таблица 1. Аминокислотные последовательности области V_H антитела к Аβ ВІІВ037 (CDR VH (определение по Каббат) подчеркнуто).

Варибельная последовательность тяжелой цепи
QVQLVESGGG VVQPGRSLRL SCAASGFAFS <u>SYGMHWVRQA</u> PGKGLEWVAV <u>IWFDGTTKYY TDSVKGRFTI</u> SRDNSKNTLY LQMNTLRAED TAVYYCARDR <u>GIGARRGPYY MDVWGKGTTV</u> TVSS (SEQ ID NO:7)

Таблица 2. Аминокислотные последовательности области V_L антитела к Аβ ВІІВ037 (VH CDR (определение по Каббат) подчеркнуто).

Варибельная последовательность легкой цепи (каппа или лямбда)
DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCRASQIS <u>SYLNWYQQK</u> GKAPKLLIYA <u>ASSLQSGVPS</u> RFGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYYCQQ SYSTPLTFGG GTKVEIKR (SEQ ID NO:8)

Таблица 3. Наименование последовательностей CDR белка в номенклатуре Каббата областей V_H и V_L антитела к Аβ ВІІВ037.

CDR	Варибельная тяжелая цепь	Варибельная легкая цепь
CDR1	SYGMH (SEQ ID NO:1)	RASQSISSYLN (SEQ ID NO:4)
CDR2	VIWFDGTTKYYTDSVKG (SEQ ID NO:2)	AASSLQS (SEQ ID NO:5)

CDR3	DRGIGARRGPYYMDV (SEQ ID NO:3)	QQSYSTPLT (SEQ ID NO:6)
------	-------------------------------	-------------------------

Аминокислотная последовательность зрелой тяжелой цепи ВПВ037 представлена в **Таблице 4** ниже.

Таблица 4. Аминокислотные последовательности тяжелой цепи антитела к Аβ ВПВ037 (CDR тяжелой цепи (определение по Каббат) подчеркнuto).

Последовательность тяжелой цепи
<p>QVQLVESGGG VVQPGRSLRL SCAASGFAFS <u>SYGMHWVRQA</u> PGKGLEWVAV <u>IWFDGTTKYY</u> TDSVKGRFTI SRDNSKNTLY LQMNTLRAED TAVYYCARDR <u>GIGARRGPYY MDVW</u>GKGT TVSSASTKGP SVFPLAPSSK STSGGTAALG CLVKDYFPEP VTVSWNSGAL TSGVHTFPAV LQSSGLYSLS SVVTPSSSL GTQTYICNVN HKPSNTKVDK RVEPKSCDKT HTCPPCPAPE LLGGPSVFLF PPKPKDTLMI SRTPEVTCVV VDVSHEDPEV KFNWYVDGVE VHNAKTKPRE EQYNSTYRVV SVLTVLHQDW LNGKEYKCKV SNKALPAPIE KTISKAQGQP REPQVYTLPP SREEMTKNQV SLTCLVKGIFY PSDIAVEWES NGQPENNYKT TPPVLDSDGS FFLYSKLTVD KSRWQQGNVF SCSVMHEALH NHYTQKLSLS SPG (SEQ ID NO:9)</p>

Аминокислотная последовательность зрелой легкой цепи ВПВ037 представлена в **Таблице 5** ниже.

Таблица 5. Аминокислотные последовательности легкой цепи антитела к Аβ ВПВ037 (CDR тяжелой цепи (определение по Каббат) подчеркнuto).

Последовательность легкой цепи
<p>DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCRASQ^SIS <u>SYLNWYQQK</u> GKAPKLLIYA <u>ASSLQSGVPS</u> RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYYC<u>QQ</u> SYSTPLTFGG GTKVEIKRTV AAPSVEIFPP SDEQLKSGTA SVVCLLNNFY PREAKVQWKV DNALQSGNSQ ESVTEQDSKD STYLSSTLT LSKADYEKHK VYACEVTHQG LSSPVTKSFN RGECS (SEQ ID NO:10)</p>

В некоторых аспектах антитело к Аβ или его Аβ-связывающий фрагмент содержит VH CDR1, включающую или состоящую из аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 1, VH CDR2, включающую или состоящую из аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO.:2; и VH CDR3, включающую или состоящую из аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO.:3. В некоторых вариантах осуществления антитело к Аβ или его Аβ-связывающий фрагмент содержит VL CDR1, включающую или состоящую из аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 4, VL CDR2, включающую или состоящую из аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 5; и VL CDR3, включающую или состоящую из аминокислотной

последовательности, представленной в SEQ ID NO.:6.

В определенных аспектах антитело к Аβ или его Аβ-связывающий фрагмент содержит CDR, содержащие или состоящие из аминокислотных последовательностей, представленных в SEQ ID NO: от 1 до 6.

В определенных вариантах осуществления антитело к Аβ или его Аβ-связывающий фрагмент содержит VH, содержащую или состоящую из аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 7. В некоторых вариантах осуществления антитело к Аβ-антитело или его Аβ-связывающий фрагмент селективно связывается с пептидом, содержащим или состоящим из аминокислот 1-16 Аβ человека, и содержит домен VH, который на по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или более идентичен аминокислотной последовательности домена VH ВПВ037 (SEQ ID NO: 7) или отличается по меньшей мере на 1-5 аминокислотных остатков, но менее чем на 40, 30, 20, 15 или 10 остатков от SEQ ID NO: 7. В некоторых вариантах осуществления указанное антитело к Аβ или его Аβ-связывающие фрагменты селективно связываются с пептидом, включающим или состоящим из аминокислот 3-6 Аβ человека.

В определенных вариантах осуществления антитело к Аβ или его Аβ-связывающий фрагмент содержит VL, содержащую или состоящую из аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 8. В некоторых вариантах осуществления антитело к Аβ-антитело или его Аβ-связывающий фрагмент селективно связывается с пептидом, содержащим или состоящим из аминокислот 1-16 Аβ человека, и содержит домен VL, который на по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или более идентичен аминокислотной последовательности домена VL ВПВ037 (SEQ ID NO: 8) или отличается по меньшей мере на 1-5 аминокислотных остатков, но менее чем на 40, 30, 20, 15 или 10 остатков от SEQ ID NO: 8. В некоторых вариантах осуществления указанное антитело к Аβ или его Аβ-связывающие фрагменты селективно связываются с пептидом, включающим или состоящим из аминокислот 3-6 Аβ человека.

В некоторых вариантах осуществления антитело к Аβ или его Аβ-связывающий фрагмент содержит VH, имеющую аминокислотную последовательность, указанную в SEQ ID NO: 7, и VL, имеющую аминокислотную последовательность, указанную в SEQ ID NO: 8. В некоторых вариантах осуществления антитело к Аβ или его Аβ-связывающий фрагмент селективно связывается с пептидом, содержащим или состоящим из аминокислот 1-16 Аβ человека, и содержит (i) домен VH, который на по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или более идентичен аминокислотной последовательности VH-домена ВПВ037 (SEQ ID NO: 7) и (ii) домен VL, который на по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96% , 97%, 98%, 99% или более идентичен аминокислотной последовательности домена VL ВПВ037 (SEQ ID NO: 8); или отличается по меньшей мере на 1-5 аминокислотных остатков, но менее чем на 40, 30, 20, 15 или 10 остатков от SEQ ID NO: 7

и/или SEQ ID NO: 8. В некоторых вариантах осуществления указанное антитело к Аβ или его Аβ-связывающие фрагменты селективно связываются с пептидом, включающим или состоящим из аминокислот 3-6 Аβ человека.

В определенных вариантах осуществления антитело к Аβ или его Аβ-связывающий фрагмент содержит тяжелую цепь (HC), имеющую аминокислотную последовательность, указанную в SEQ ID NO: 9. В некоторых вариантах осуществления антитело к Аβ или его Аβ-связывающий фрагмент селективно связывается с пептидом, содержащим или состоящим из аминокислот 1-16 Аβ человека, и содержит HC, который на по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или более идентичен аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 9 или отличается по меньшей мере на 1-5 аминокислотных остатков, но менее чем на 40, 30, 20, 15 или 10 остатков от SEQ ID NO: 9. В некоторых вариантах осуществления указанное антитело к Аβ или его Аβ-связывающие фрагменты селективно связываются с пептидом, включающим или состоящим из аминокислот 3-6 Аβ человека.

В определенных вариантах осуществления антитело к Аβ или его Аβ-связывающий фрагмент содержит легкую цепь (LC), имеющую аминокислотную последовательность, указанную в SEQ ID NO: 10. В некоторых вариантах осуществления антитело к Аβ или его Аβ-связывающий фрагмент селективно связывается с пептидом, содержащим или состоящим из аминокислот 1-16 Аβ человека, и содержит LC, которая на по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или более идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 10 или отличается по меньшей мере на 1-5 аминокислотных остатков, но менее чем на 40, 30, 20, 15 или 10 остатков от SEQ ID NO: 10. В некоторых вариантах осуществления указанное антитело к Аβ или его Аβ-связывающие фрагменты селективно связываются с пептидом, включающим или состоящим из аминокислот 3-6 Аβ человека.

В определенных вариантах осуществления антитело к Аβ или его Аβ-связывающий фрагмент содержит HC, имеющую аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 9, и LC, имеющую аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 10. В некоторых вариантах осуществления антитело к Аβ или его Аβ-связывающий фрагмент селективно связывается с пептидом, содержащим или состоящим из аминокислот 1-16 Аβ человека, и содержит (i) HC, которая на по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или более, идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 9, или отличается по меньшей мере на 1-5 аминокислотных остатков, но менее чем на 40, 30, 20, 15 или 10 остатков от SEQ ID NO: 9; и (ii) LC, которая на по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или более идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 10 или отличается по меньшей мере на 1-5 аминокислотных остатков, но менее чем на 40, 30, 20, 15 или 10 остатков от SEQ ID NO: 10. В некоторых вариантах осуществления указанное антитело к Аβ или его Аβ-связывающие фрагменты селективно связываются с пептидом, включающим или

состоящим из аминокислот 3-6 Аβ человека.

В определенных вариантах осуществления антитело к Аβ представляет собой антитело IgG. В конкретных вариантах осуществления антитело к Аβ имеет константную область тяжелой цепи, выбранную, например, из IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgM, IgA1, IgA2, IgD и IgE. В одном варианте осуществления антитело к Аβ имеет человеческий изотип IgG1. В другом варианте осуществления антитело к Аβ имеет человеческий изотип IgG2. В еще одном варианте осуществления антитело к Аβ имеет человеческий изотип IgG3. В еще одном варианте осуществления антитело к Аβ имеет человеческий изотип IgG4. В других вариантах осуществления антитело имеет константную область легкой цепи, выбранную, например, из легкой цепи каппа или лямбда человека. В определенном варианте осуществления антитело к Аβ представляет собой IgG1 человека/ каппа антитело человека. В некоторых случаях константная область тяжелой цепи является константной областью тяжелой цепи человека или модифицированной формой константной области человека. В определенных случаях константная область человека может включать в себя по меньшей мере 1 и до 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 или 20 замен. В конкретном варианте осуществления модифицированная область Fc человека представляет собой модифицированную область Fc IgG1 человека. В некоторых случаях константная область антитела к Аβ модифицируется мутацией одного или более аминокислотных остатков для придания желаемого функционального свойства (например, измененной эффекторной функции или периода полураспада, сниженного гликозилирования). Например, сайт N-связанного гликозилирования может быть замещен для предотвращения или уменьшения N-связанного гликозилирования области Fc (например, области Fc IgG1 человека).

В некоторых вариантах осуществления антитело к Аβ представляет собой полноразмерное (цельное) антитело или по существу полноразмерное антитело. Белок может содержать по меньшей мере одну и, предпочтительно, две полные тяжелые цепи и по меньшей мере одну и, предпочтительно, две полные легкие цепи. В некоторых вариантах осуществления антитело к Аβ представляет собой Аβ-связывающий фрагмент. В некоторых случаях Аβ-связывающий фрагмент представляет собой Fab, Fab', F(ab')₂, Fcab, Fv, одноцепочечный Fv (scFv), sc(Fv)₂ или диатело.

Антитела, такие как ВПВ037, или их Аβ-связывающие фрагменты могут быть получены, например, путем получения и экспрессии синтетических генов, которые кодируют перечисленные аминокислотные последовательности, или путем мутации генов человеческой зародышевой линии с получением гена, который кодирует указанные аминокислотные последовательности. Кроме того, указанное антитело и другие антитела к Аβ могут быть получены, например, с использованием одного или более из следующих способов.

Способы получения антител

Антитела к Аβ и Аβ-связывающие фрагменты могут быть получены в бактериальных и эукариотических клетках. Некоторые антитела, например, Fab, могут быть получены в

бактериальных клетках, например, клетках *E. coli*. Антитела также могут быть получены в эукариотических клетках, таких как трансформированные клеточные линии (например, CHO, 293E, COS). Кроме того, антитела (например, scFv) могут быть экспрессированы в дрожжевой клетке, такой как *Pichia* (см., например, Powers et al., *J Immunol Methods*. 251:123-35 (2001)), *Hansenula*, or *Saccharomyces*. Чтобы получить интересующее антитело, конструируют полинуклеотид, кодирующий антитело, вводят его в вектор экспрессии и затем экспрессируют его в подходящих клетках-хозяевах. Полинуклеотиды, кодирующие антитела к Аβ, содержащие VH и/или VL, HC и/или LC антител к Аβ, описанных в настоящем документе, могут быть понятны специалисту в данной области техники. Для приготовления рекомбинантного вектора экспрессии, трансфекции клеток-хозяев, отбора трансформантов, культивирования клеток-хозяев и выделения антитела используются стандартные методы молекулярной биологии.

Если антитела к Аβ или Аβ-связывающие фрагменты должны экспрессироваться в бактериальных клетках (например, *E. coli*), вектор экспрессии должен иметь характеристики, которые позволяют амплифицировать вектор в бактериальных клетках. Дополнительно, когда такую *E. coli*, как JM109, DH5α, HB101 или XL1-Blue, применяют в качестве хозяина, вектор должен иметь промотор, например промотор lacZ (Ward et al., 341:544-546 (1989)), промотор araB (Better et al., *Science*, 240:1041-1043 (1988)) или промотор T7, который может обеспечить эффективную экспрессию в *E. coli*. Примеры подобных векторов включают, например, векторы серий M13, векторы серий pUC, pBR322, pBluescript, pCR-Script, pGEX-5X-1 (Pharmacia), «систему QIAexpress» (QIAGEN), pEGFP и pET (когда применяют этот вектор экспрессии, хозяин предпочтительно, экспрессирует BL21 РНК-полимеразу T7). Для экспрессии антител вектор экспрессии может содержать сигнальную последовательность. Для выработки в периплазму *E. coli* сигнальная последовательность pelB (Lei et al., *J. Bacteriol.*, 169:4379 (1987)) может использоваться в качестве сигнальной последовательности для секреции антител. Для бактериальной экспрессии могут быть использованы методы с использованием хлорида кальция или методы электропорации для введения вектора экспрессии в бактериальную клетку.

Если антитело должно экспрессироваться в клетках животных, таких как клетки CHO, COS и NIH3T3, вектор экспрессии включает промотор, необходимый для экспрессии в этих клетках, например, промотор SV40 (Mulligan et al., *Nature*, 277:108 (1979)), промотор MMLV-LTR, промотор EF1α (Mizushima et al., *Nucleic Acids Res.*, 18:5322 (1990)), или промотор CMV. В дополнение к последовательности нуклеиновой кислоты, кодирующей иммуноглобулин или его домен, рекомбинантные векторы экспрессии могут нести дополнительные последовательности, такие как последовательности, которые регулируют репликацию вектора в клетках-хозяевах (например, точки начала репликации), и селективируемые маркерные гены. Селективируемый маркерный ген облегчает отбор клеток-хозяев, в которые был введен вектор (смотрите например, патенты США №№ 4399216, 4634665 и 5179017). Например, селективируемый

маркерный ген обычно придает устойчивость по отношению к лекарственным средствам, таким как G418, гиромоцин или метотрексат, клетке-хозяину, в которую был введен вектор. Примеры векторов с селективируемыми маркерами включают pMAM, pDR2, pBK-RSV, pBK-CMV, pOPRSV и pOP13.

В одном варианте реализации антитела вырабатываются в клетках млекопитающих. Предлагаемые в качестве примера клетки-хозяева млекопитающих для экспрессирования антитела включают клетки яичника китайского хомячка (клетки CHO) (в том числе клетки dhfr⁻ CHO, описанные в Urlaub and Chasin (1980) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77:4216-4220, используемые с селективируемым маркером DHFR, например, как описано в Kaufman and Sharp (1982) Mol. Biol. 159:601-621), эмбриональные клетки 293 почки человека (например, 293, 293E, 293T), клетки COS, клетки NIH3T3, лимфоцитарные клеточные линии, например клетки миеломы NS0 и клетки SP2, и клетку от трансгенного животного, например трансгенного млекопитающего. Например, клетка является эпителиальной клеткой молочной железы.

В примерной системе для экспрессии антител, рекомбинантный вектор экспрессии кодирующий обе, тяжелую и легкую, цепи антитела к A β (например, В1В037), введен в клетки dhfr⁻ CHO посредством фосфата кальция- опосредованной трансфекции. В пределах рекомбинантного вектора экспрессии каждый из генов тяжелой и легкой цепи антитела функционально связан с регуляторными элементами энхансера/промотора (например, полученными из SV40, CMV, аденовируса и подобного, такими как регуляторный элемент энхансера CMV/промотора AdMLP или регуляторный элемент энхансера SV40/промотора AdMLP) для управления высокими уровнями транскрипции генов. Рекомбинантный вектор экспрессии также несет ген DHFR, который делает возможным селекцию клеток CHO, которые были трансфицированы вектором с использованием селекции/амплификации с помощью метотрексата. Отобранные трансформированные клетки-хозяева культивируют, чтобы сделать возможной экспрессию тяжелой и легкой цепей антитела, и выделяют антитело из культуральной среды.

Антитела также могут продуцироваться трансгенным животным. Например, патент США № 5849992 описывает способ экспрессирования антитела в молочной железе трансгенного млекопитающего. Конструируют трансген, который содержит специфический по отношению к молоку промотор и нуклеиновые кислоты, кодирующие представляющее интерес антитело и сигнальную последовательность для секреции. Молоко, вырабатываемое самками таких трансгенных млекопитающих, содержит в себе представляющее интерес секретлируемое антитело. Антитело может быть очищено от молока или использовано непосредственно для некоторых применений. Также предлагаются животные, содержащие одну или более нуклеиновых кислот, описанных в настоящем документе.

Антитела по настоящему раскрытию могут выделяться внутрь или наружу (например, в среде) клетки-хозяина и очищены до по существу чистых и гомогенных

антител. Для выделения и очистки антител могут быть использованы методы выделения и очистки, обычно применяемые для очистки антител, и не ограниченные каким-либо конкретным способом. Антитела могут быть выделены и очищены с помощью соответствующего выбора и комбинирования, например, колоночной хроматографии, фильтрации, ультрафильтрации, высаливания, осаждения растворителями, экстракции растворителями, дистилляции, иммунопреципитации, электрофореза в SDS-полиакриламидном геле, изоэлектрического фокусирования, диализа и перекристаллизации. Хроматография включает, например, аффинную хроматографию, ионообменную хроматографию, гидрофобную хроматографию, гель-фильтрацию, обращенно-фазовую хроматографию и адсорбционную хроматографию (Strategies for Protein Purification and Characterization: A Laboratory Course Manual. Ed Daniel R. Marshak et al., Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1996). Хроматография может быть проведена с использованием жидкофазной хроматографии, такой как ВЭЖХ и FPLC. Колонки, применяемые для аффинной хроматографии, включают колонку с белком А и колонку с белком G. Примеры колонок с использованием колонки с белком А включают Hyper D, POROS и Sepharose FF (GE Healthcare Biosciences). Настоящее раскрытие также включает антитела, которые являются высокоочищенными с использованием указанных методов очистки.

Композиции антител к Аβ

В данном раскрытии также предлагаются композиции (например, фармацевтические композиции), содержащие антитела к Аβ или их Аβ-связывающие фрагменты, описанные в данном документе. Например, композиции антител к Аβ содержат антитело к Аβ или его Аβ-связывающий фрагмент, содержащие переменный домен тяжелой цепи (VH) иммуноглобулина и переменный домен легкой цепи (VL) иммуноглобулина, причем VH содержит H-CDR и VL содержит L-CDR В1В037. В определенных случаях CDR тяжелой цепи (H-CDR) содержат или состоят из аминокислотных последовательностей, представленных в SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2 и SEQ ID NO: 3; и CDR легкой цепи (L-CDR) содержат или состоят из аминокислотных последовательностей, представленных в SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5 и SEQ ID NO: 6. В некоторых вариантах осуществления, композиции антител к Аβ содержат антитело к Аβ или его Аβ-связывающий фрагмент, содержащий (i) VH, содержащий или состоящий из аминокислотной последовательности, которая по меньшей мере на 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентична аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 7; и (ii) VL, содержащий или состоящий из аминокислотной последовательности, которая по меньшей мере на 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентична аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 8. В определенных вариантах осуществления, композиции антител к Аβ содержат антитело к Аβ, содержащее (i) тяжелую цепь, содержащую или состоящую из аминокислотной последовательности, которая по меньшей мере на 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%

или 100% идентична аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 9; и (ii) легкую цепь, содержащую или состоящую из аминокислотной последовательности, которая по меньшей мере на 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентична аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 10. В некоторых вариантах осуществления, антитела к Аβ селективно связываются с пептидом, содержащим или состоящим из 1-16 аминокислот Аβ человека. В некоторых вариантах осуществления, антитела к Аβ селективно связываются с пептидом, содержащим или состоящим из 3-6 аминокислот Аβ человека.

В определенных вариантах осуществления, данные композиции являются композициями антител к Аβ высокой концентрации. Под «композицией антител к Аβ высокой концентрации» подразумевается композиция, содержащая антитела к Аβ или их Аβ-связывающие фрагменты в концентрации более 50 мг/мл и менее 300 мг/мл. В определенных случаях композиция антител к Аβ содержит антитела к Аβ или их Аβ-связывающие фрагменты в концентрации от 50 мг/мл до 250 мг/мл. В определенных случаях композиция антител к Аβ содержит антитела к Аβ или их Аβ-связывающие фрагменты в концентрации от 50 мг/мл до 225 мг/мл. В других случаях композиция антител к Аβ содержит антитела к Аβ или их Аβ-связывающие фрагменты в концентрации от 75 мг/мл до 225 мг/мл. В других случаях композиция антител к Аβ содержит антитела к Аβ или их Аβ-связывающие фрагменты в концентрации от 75 мг/мл до 165 мг/мл. В других случаях композиция антител к Аβ содержит антитела к Аβ или их Аβ-связывающие фрагменты в концентрации от 100 мг/мл до 225 мг/мл. В еще других случаях композиция антител к Аβ содержит антитела к Аβ или их Аβ-связывающие фрагменты в концентрации от 125 мг/мл до 225 мг/мл. В других случаях композиция антител к Аβ содержит антитела к Аβ или их Аβ-связывающие фрагменты в концентрации от 125 мг/мл до 175 мг/мл. В определенных случаях композиция антител к Аβ содержит антитела к Аβ или их Аβ-связывающие фрагменты в концентрации 240 мг/мл. В определенных случаях композиция антител к Аβ содержит антитела к Аβ или их Аβ-связывающие фрагменты в концентрации 225 мг/мл. В определенных случаях композиция антител к Аβ содержит антитела к Аβ или их Аβ-связывающие фрагменты в концентрации 200 мг/мл. В определенных случаях композиция антител к Аβ содержит антитела к Аβ или их Аβ-связывающие фрагменты в концентрации 175 мг/мл. В определенных случаях композиция антител к Аβ содержит антитела к Аβ или их Аβ-связывающие фрагменты в концентрации 150 мг/мл. В других случаях композиция антител к Аβ содержит антитела к Аβ или их Аβ-связывающие фрагменты в концентрации 125 мг/мл. В некоторых случаях композиция антител к Аβ содержит антитела к Аβ или их Аβ-связывающие фрагменты в концентрации 100 мг/мл.

Композиция (например, фармацевтическая композиция), содержащая антитело к Аβ или его Аβ-связывающий фрагмент, описанная в данном документе, может находиться в любой из множества форм. К ним относятся, например, жидкие растворы (например, растворы для инъекций и инфузий), дисперсии или суспензии. Предпочтительная форма

может зависеть от предполагаемого способа введения и терапевтического применения. В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция, описанная в данном документе, содержится в форме стерильного раствора для инъекций или инфузий.

Стерильные растворы для инъекций могут быть приготовлены путем включения описанного в данном документе антитела в необходимом количестве с одним или комбинацией ингредиентов с последующей стерилизованной фильтрацией. Обычно дисперсии готовят путем включения антитела, описанного в данном документе, в стерильный носитель, который содержит основную дисперсионную среду и необходимые другие ингредиенты. В случае стерильных порошков для приготовления стерильных растворов для инъекций, типовым способом приготовления является вакуумная сушка и сублимационная сушка, которая приводит к порошку антитела, описанного в данном документе, плюс любой дополнительный желаемый ингредиент из его предварительно стерильно профильтрованного раствора. Надлежащая текучесть раствора может поддерживаться, например, путем использования покрытия, такого как лецитин, путем поддержания требуемого размера частиц в случае дисперсии и путем использования поверхностно-активных веществ.

Композиции антител к Аβ (например, фармацевтические композиции) могут дополнительно содержать одно или более вспомогательных веществ.

В одном варианте осуществления вспомогательное вещество снижает/уменьшает агрегацию и/или вязкость антитела в композиции по сравнению с агрегацией и/или вязкостью антитела в фармацевтической композиции без этого вспомогательного вещества. В определенных вариантах осуществления таким вспомогательным веществом является аргинин. В одном случае вспомогательным веществом является гидрохлорид L-аргинина. Аргинин (например, гидрохлорид L-аргинина) может быть включен в композицию в концентрации от 40 мМ до 260 мМ, от 50 мМ до 250 мМ, от 50 мМ до 200 мМ, от 50 мМ до 150 мМ, от 50 мМ до 125 мМ, от 50 мМ до 100 мМ, от 75 мМ до 250 мМ, от 75 мМ до 200 мМ, от 75 мМ до 150 мМ или от 75 мМ до 100 мМ. В определенных вариантах осуществления аргинин (например, Arg.HCl) присутствует в композиции в концентрации от 50 мМ до 250 мМ. В других вариантах осуществления аргинин (например, Arg.HCl) присутствует в композиции в концентрации от 50 мМ до 200 мМ. В некоторых случаях аргинин (например, гидрохлорид аргинина) может быть включен в композицию в концентрации 80 мМ, 100 мМ, 120 мМ, 125 мМ, 130 мМ, 135 мМ, 140 мМ, 145 мМ, 150 мМ, 220 мМ или 260 мМ. В конкретном случае аргинин (например, гидрохлорид аргинина) может быть включен в композицию в концентрации 100 мМ. В другом конкретном случае аргинин (например, гидрохлорид аргинина) может быть включен в композицию в концентрации 150 мМ.

Иногда растворы, содержащие аргинин, образуют видимые частицы после инкубации при комнатной температуре или более высоких температурах (например, 40 °C). Добавление сахарозы может уменьшить или предотвратить образование видимых частиц. Кроме того, сахароза может снизить количество невидимых частиц. В некоторых

вариантах осуществления композиция антитела к Аβ содержит сахарозу в концентрации от 0,05% до 5%, от 0,05% до 4%, от 0,05% до 3%, от 1% до 5%, от 1% до 4%, от 1% до 3%, от 2% до 5%, от 2% до 4% или от 2% до 3%. В некоторых вариантах осуществления композиция антитела к Аβ содержит сахарозу в концентрации 0,5%, 1%, 1,5%, 2%, 2,5%, 3%, 3,5%, 4%, 4,5% или 5%. В конкретном варианте осуществления композиция антитела к Аβ содержит сахарозу в концентрации 3%. В другом конкретном варианте осуществления композиция антитела к Аβ содержит сахарозу в концентрации 1%.

В одном варианте осуществления композиции антител к Аβ содержат метионин. В одном случае метионин включен в композицию в концентрации от 0,5 мМ до 150 мМ. В другом случае метионин включен в композицию в концентрации от 0,5 мМ до 25 мМ. В еще одном случае метионин включен в композицию в концентрации от 5 мМ до 150 мМ. В одном случае метионин включен в композицию в концентрации 5 мМ, 10 мМ, 15 мМ, 20 мМ или 25 мМ, 50 мМ, 75 мМ, 100 мМ, 125 мМ или 150 мМ. В конкретном случае метионин включен в композицию в концентрации 10 мМ. В другом конкретном случае метионин включен в композицию в концентрации 150 мМ.

Изготовление продукта, содержащего антитела, представляет собой сложный процесс, который может включать несколько этапов, таких как, например, производство действующего вещества и нерасфасованного продукта, фильтрация, отгрузка, объединение, наполнение, лиофилизация, контроль, упаковка и хранение. Во время данных этапов антитела могут подвергаться различным формам стресса, например, перемешиванию, температуре, действию света и окислению. Данные типы стрессов могут привести к денатурации и агрегации антител, что ухудшает качество продукта и может даже привести к потере промышленной серии. Встряхивание является одним из распространенных физических стрессов, которым подвергается терапевтическое средство на основе антител в ходе процесса производства. Встряхивание происходит, например, во время смешивания, ультрафильтрации/диафильтрации, перекачки, доставки и наполнения. Для защиты композиции антител от стресса, вызванного встряхиванием, композиция может содержать полисорбат. В некоторых вариантах осуществления композиция содержит полисорбат-80 в концентрации от 0,01% до 0,5%, от 0,01% до 0,1%, от 0,01% до 0,09%, от 0,01% до 0,08%, от 0,01% до 0,07%, от 0,01% до 0,06%, от 0,01% до 0,05%, от 0,01% до 0,04% или от 0,01% до 0,03%. В определенных вариантах осуществления композиция содержит полисорбат-80 в концентрации от 0,02% до 0,08%. В некоторых вариантах осуществления композиция содержит полисорбат-80 в концентрации 0,01%, 0,02%, 0,03%, 0,04%, 0,05%, 0,06%, 0,07%, 0,08%, 0,09% или 0,1%. В конкретном варианте осуществления композиция содержит полисорбат-80 в концентрации 0,05%.

Любой композиции антител пойдет на пользу введение буфера, который обеспечивает хорошую буферную емкость. В определенных вариантах осуществления композиция антитела содержит гистидин в качестве буферного агента. В некоторых вариантах осуществления композиция содержит гистидин в концентрации от 5 мМ до 50 мМ, от 5 мМ до 40 мМ, от 5 мМ до 35 мМ, от 5 мМ до 30 мМ, от 5 мМ до 25 мМ, от 10 мМ

pH композиции антителя может составлять от 5,2 до 6,2. В некоторых случаях pH композиции антителя составляет 5,0, 5,1, 5,2, 5,3, 5,4, 5,5, 5,6, 5,7, 5,8, 5,9, 6,0, 6,1, 6,2, 6,3, 6,4 или 6,5. В конкретном варианте осуществления pH композиции антители составляет 5,5.

В некоторых случаях композиции Aβ содержат аргинин (например, Arg. HCl). В других случаях композиции Aβ содержат аргинин (например, Arg. HCl) и метионин.

В некоторых вариантах осуществления композиции Aβ содержат гидрохлорид L-аргинина (например, 150 mM), метионин (например, 10 mM), гистидин (например, 20 mM) и PS80 (например, 0,05%) и имеют pH от 5,2 до 6,2. В некоторых вариантах осуществления композиции Aβ включают гидрохлорид L-аргинина (например, 150 mM), метионин (например, 10 mM, 150 mM), гистидин (например, 20 mM) и PS80 (например, 0,05%), и имеют pH 5,5. В некоторых вариантах осуществления композиции Aβ включают гидрохлорид L-аргинина (например, 150 mM), метионин (например, 10 mM, 150 mM), гистидин (например, 20 mM), PS80 (например, 0,05%) и сахарозу (до 3%) и имеют pH от 5,2 до 6,2. В некоторых вариантах осуществления композиции Aβ содержат гидрохлорид L-аргинина, метионин, гистидин, PS80 и сахарозу, и имеют pH 5,5. Во всех этих вариантах осуществления антители к Aβ присутствуют в концентрации от 100 мг/мл до 165 мг/мл. В одном случае антители к Aβ присутствуют в концентрации 150 мг/мл. В одном случае антители к Aβ присутствуют в концентрации 100 мг/мл.

В некоторых случаях композиция антителя к Aβ содержит тиолсодержащий антиоксидант (например, восстановленный глутатион (GSH), окисленный глутатион (GSSG), GSH+GSSG, цистеин, цистин, цистеин+цистин) в концентрации от 0,02 mM до 4 mM (например, 0,02, 0,03, 0,05, 0,06, 0,08, 0,1, 0,2, 0,3, 0,4, 0,5, 0,6, 0,7, 0,8, 0,9, 1,0, 1,1, 1,2, 1,3, 1,4, 1,5, 1,6, 1,7, 1,8, 1,9, 2,0, 2,1, 2,2, 2,3, 2,4, 2,5, 2,6, 2,7, 2,8, 2,9, 3,0, 3,1, 3,2, 3,3, 3,4, 3,5, 3,6, 3,7, 3,8, 3,9 или 4,0 mM). Такие тиолсодержащие антиоксиданты могут расщеплять неблагоприятные или неправильно образованные дисульфидные связи и способствовать образованию благоприятных или надлежащим образом соединенных дисульфидных связей. Это может привести к стабилизации нативной конформации антителя или его фрагмента, и замедлить скорость агрегации. Антиоксидантные свойства этих молекул могут замедлять окислительные процессы, которые приводят к агрегации. В некоторых случаях композиция содержит GSH в концентрации 0,4 mM. В некоторых случаях композиция содержит GSSG в концентрации 0,2 mM. В некоторых случаях композиция содержит GSH в концентрации 0,4 mM и GSSG в концентрации 0,2 mM. В некоторых случаях композиция содержит GSH в концентрации 4 mM и GSSG в концентрации 2 mM. В некоторых случаях композиция содержит GSH в концентрации 2 mM и GSSG в концентрации 1 mM. В некоторых случаях композиция содержит цистеин в концентрации 0,4 mM. В некоторых случаях композиция содержит цистин в концентрации 0,2 mM. В некоторых случаях композиция содержит цистеин в концентрации 0,4 mM и цистин в концентрации 0,2 mM.

В некоторых вариантах осуществления композиции Aβ содержат аргинин (например, Arg.HCl), тиолсодержащий антиоксидант и метионин.

В некоторых вариантах осуществления композиции Аβ содержат гидрохлорид L-аргинина (например, 150 мМ), метионин (например, 10 мМ), гистидин (например, 20 мМ), тиолсодержащий антиоксидант, такой как GSH, GSSG, GSH и GSSG, цистеин, цистин или цистеин и цистин (например, от 0,02 мМ до 4 мМ) и PS80 (например, 0,05%), и имеют pH от 5,2 до 6,2. В некоторых вариантах осуществления, композиции Аβ содержат гидрохлорид L-аргинина (например, 150 мМ), метионин (например, 10 мМ, 150 мМ), гистидин (например, 20 мМ), тиолсодержащий антиоксидант, такой как GSH, GSSG, GSH и GSSG, цистеин, цистин или цистеин, и цистин (например, от 0,02 мМ до 4 мМ), и PS80 (например, 0,05%), и имеют pH 5,5. В некоторых вариантах осуществления, композиции Аβ содержат гидрохлорид L-аргинина (например, 150 мМ), метионин (например, 10 мМ, 150 мМ), гистидин (например, 20 мМ), PS80 (например, 0,05%), тиолсодержащий антиоксидант, такой как GSH, GSSG, GSH и GSSG, цистеин, цистин или цистеин, и цистин (например, от 0,02 мМ до 4 мМ), и сахарозу (до 3%), и имеют pH от 5,2 до 6,2. В некоторых вариантах осуществления, композиции Аβ содержат гидрохлорид L-аргинина, метионин, гистидин, PS80, тиолсодержащий антиоксидант, такой как GSH, GSSG, GSH и GSSG, цистеин, цистин или цистеин, и цистин, и сахарозу, и имеют pH 5,5. Во всех этих вариантах осуществления антитело к Аβ присутствует в концентрации от 100 мг/мл до 165 мг/мл. В одном случае антитело к Аβ присутствует в концентрации 150 мг/мл. В одном случае антитело к Аβ присутствует в концентрации 100 мг/мл.

В некоторых вариантах осуществления композиция (например, фармацевтическая композиция) содержит антитело к Аβ или его Аβ-связывающий фрагмент в концентрации от 50 мг/мл до 250 мг/мл, аргинин (например, гидрохлорид L-аргинина) в концентрации от 50 мМ до 200 мМ, метионин в концентрации от 1 мМ до 150 мМ (например, от 1 мМ до 20 мМ); полисорбат-80 в концентрации от 0,01 до 0,1%, гистидин в концентрации от 10 мМ до 30 мМ и сахарозу в концентрации от 0 до 3%. В некоторых случаях композиция имеет pH от 5,2 до 6,2. В других случаях композиция имеет pH от 5,2 до 6,0. В некоторых вариантах осуществления антитело к Аβ или его Аβ-связывающий фрагмент композиции содержат VH и VL, содержащие CDR В1В037 (например, SEQ ID NO: 1, 2, 3, 4, 5 и 6). В некоторых вариантах осуществления антитело к Аβ или его Аβ-связывающий фрагмент композиции содержат VH и VL, содержащие SEQ ID NO: 7 и 8, соответственно. В некоторых вариантах осуществления антитело к Аβ или его Аβ-связывающий фрагмент композиции содержат тяжелую цепь и легкую цепь, содержащую SEQ ID NO: 9 и 10, соответственно. В одном варианте осуществления композиция имеет pH 5,5 и содержит В1В037 или В1В037-связывающий его фрагмент в концентрации 150 мг/мл, гидрохлорид L-аргинина в концентрации 150 мМ, метионин в концентрации 10 мМ или 150 мМ, полисорбат-80 в концентрации 0,05% и гистидин в концентрации 20 мМ (16,2 мМ моногидрат L-гистидина HCl, 3,8 мМ свободного основания L-гистидина). В некоторых вариантах осуществления композиция дополнительно содержит тиолсодержащий антиоксидант (например, GSH, GSSG, GSH+GSSG, цистеин, цистин, цистеин+цистин) в концентрации от 0,02 мМ до 4 мМ. В некоторых вариантах осуществления композиция

дополнительно содержит сахарозу в концентрации от 0,01% до 3%. В некоторых вариантах осуществления антитело к Аβ или его Аβ-связывающий фрагмент композиции содержат VH и VL, содержащие CDR В1В037 (например, SEQ ID NO: 1, 2, 3, 4, 5 и 6). В некоторых вариантах осуществления антитело к Аβ или его Аβ-связывающий фрагмент композиции содержат VH и VL, содержащие SEQ ID NO: 7 и 8, соответственно. В некоторых вариантах осуществления антитело к Аβ или его Аβ-связывающий фрагмент композиции содержат тяжелую цепь и легкую цепь, содержащую SEQ ID NO: 9 и 10, соответственно.

В одном варианте осуществления композиция имеет рН 5,5 и содержит В1В037 или его В1В037-связывающий фрагмент в концентрации 150 мг/мл, гидрохлорид L-аргинина в концентрации 150 мМ, тиолсодержащий антиоксидант (например, GSH, GSSG, GSH+GSSG, цистеин, цистин, цистеин+цистин) в концентрации от 0,02 мМ до 4 мМ, полисорбат-80 в концентрации 0,05% и гистидин в концентрации 20 мМ. В одном варианте осуществления тиолсодержащий антиоксидант представляет собой GSH в концентрации 0,4 мМ. В одном варианте осуществления тиолсодержащий антиоксидант представляет собой GSH в концентрации 0,4 мМ и GSSG в концентрации 0,2 мМ. В одном варианте осуществления тиолсодержащий антиоксидант представляет собой GSH в концентрации 4 мМ и GSSG в концентрации 2 мМ. В одном варианте осуществления тиолсодержащий антиоксидант представляет собой GSH в концентрации 2 мМ и GSSG в концентрации 1 мМ. В другом варианте осуществления тиолсодержащий антиоксидант представляет собой цистеин в концентрации 0,4 мМ. В другом варианте осуществления тиолсодержащий антиоксидант представляет собой цистеин в концентрации 0,4 мМ и цистин в концентрации 0,2 мМ.

Способы лечения

В1В037 распознает агрегированные формы Аβ, включая бляшки. Исследования характеристик *in vitro* установили, что антитело В1В037 распознает конформационный эпитоп, присутствующий в агрегатах Аβ, накопление которых, как полагают, лежит в основе развития и прогрессирования болезни Альцгеймера (БА). Исследования фармакологии *in vivo* показывают, что вариант химерного антитела IgG2a мыши (ch12F6A) с аналогичными свойствами значительно снижает нагрузку амилоидными бляшками в мозге старых мышей Tg2576, мышечных моделей БА. Снижение количества паренхимного амилоида не сопровождалось изменением сосудистого амилоида, как сообщалось для некоторых антител к Аβ.

Композиции, раскрытые в данном описании, полезны для лечения аномального накопления или отложения Аβ в центральной нервной системе субъекта-человека, нуждающегося в этом. Композиции, раскрытые в данном описании, также полезны для лечения умеренных когнитивных нарушений у субъекта-человека, нуждающегося в этом. Используемые в данном документе термины «лечить» или «лечение» обычно означают получение желаемого фармакологического и/или физиологического эффекта.

В определенных вариантах осуществления композиции, раскрытые в данном

документе, полезны при лечении БА у субъекта-человека, нуждающегося в этом. В других вариантах осуществления, раскрытые в данном документе композиции полезны для предотвращения БА у субъекта-человека, нуждающегося в этом.

Композиции, раскрытые в данном документе, могут быть применимы для: (a) предотвращения возникновения БА у субъекта, который может быть предрасположен к БА, но еще не был диагностирован как имеющий его; (b) ингибирования БА, например, остановка ее развития; (c) облегчения БА, например, вызывая регресс БА; или (d) продления выживаемости по сравнению с ожидаемой выживаемостью, если лечение не проводится.

Субъекту-человеку, нуждающемуся в этом, вводят терапевтически эффективное количество или дозу антитела к Аβ или его Аβ-связывающего фрагмента. Терапевтически эффективное количество относится к количеству антитела, достаточному для ослабления симптома или состояния, связанного с Аβ. Терапевтическая эффективность и токсичность антитела могут быть определены стандартными фармацевтическими процедурами. В идеальном случае антитело применяют в количестве, достаточном для восстановления нормального поведения и/или когнитивных свойств в случае болезни Альцгеймера, или по меньшей мере для задержки или предотвращения прогрессирования БА у пациента.

В некоторых вариантах осуществления композицию, содержащую антитело к Аβ или его Аβ-связывающий фрагмент, вводят человеку внутривенно. В определенных вариантах осуществления композицию, содержащую антитело к Аβ или его Аβ-связывающий фрагмент, вводят человеку подкожно.

Далее представлены примеры осуществления на практике настоящего изобретения. Они никоим образом не должны рассматриваться как ограничивающие объем настоящего изобретения.

Примеры

Пример 1: pH и подбор буфера для оптимального состава

Следующие составы были приготовлены и проверены для определения оптимального буфера и pH.

Таблица 6: pH и подбор буфера для составов

Буфер	pH	Вспомогательные вещества	Концентрация белка
20 mM ацетат	4,5	150 mM L-аргинин HCl 0,05% полисорбат-80	155-165 мг/мл
	5,0		
	5,5		
20 mM сукцинат	4,5		
	5,0		
	5,5		
	6,0		

20 мМ гистидин	5,5	
	6,0	
	6,5	
20 мМ цитрат	5,0	
	5,5	
	6,0	
	6,5	

Составы хранили при 40 °С+75% относительной влажности (RH) в течение 4 недель (**Фиг. 1**).

Выводы:

1) Гистидиновый буфер показал самое низкое изменение в процентах высокомолекулярных частиц (% HMW) по сравнению с ацетатным, сукцинатным и цитратным буферами.

2) Тенденция была постоянной в диапазоне pH от 5,5 до 6,5.

Пример 2. Аргинин как оптимальное вспомогательное вещество для регуляции количества HMW

Следующие составы были приготовлены для определения оптимального стабилизирующего вспомогательного вещества (вспомогательных веществ). Большинство из них содержат L-аргинин HCl, либо только его, либо в сочетании с другим вспомогательными веществами. Два состава не содержали аргинина и содержали только сахар (сахарозу или трегалозу).

Таблица 7. Подбор вспомогательного вещества для составов

Вспомогательное вещество (все содержат 20 мМ гистидина и 0,05% полисорбата-80)	pH	Концентрация белка
150 мМ L-аргинин HCl	6,0	220-230 мг/мл
150 мМ L-аргинин HCl	5,5	
100 мМ L-аргинин HCl	5,5	
100 мМ L-аргинин HCl+3% сахароза	5,5	
100 мМ L-аргинин HCl+3% сахароза	6,0	
100 мМ L-аргинин HCl+50 мМ NaCl	5,5	
75 мМ L-аргинин HCl+75 мМ глутамат	5,5	
150 мМ L-аргинин HCl+10 мМ метионин	5,5	
150 мМ L-аргинин HCl+10 мМ метионин	6,0	
300 мМ сахароза	5,5	
300 мМ трегалоза	5,5	

50 мМ L-аргинин HCl+4,5% сахараза	5,5
-----------------------------------	-----

Составы хранили при 40 °С+75% относительной влажности и тестировали на % НМВ в течение 6 недель (Фиг.2).

Выводы:

1) Составы, содержащие аргинин (сплошные линии), продемонстрировали лучшие результаты, чем составы, не содержащие аргинин (пунктирные линии).

2) Комбинация аргинин+метионин (две самые нижние сплошные линии на графике) продемонстрировали лучшие результаты, чем один аргинин и аргинин в сочетании с другими вспомогательными веществами.

3) Составы, приготовленные при рН 5,5 и 6,0, всегда демонстрировали лучшие результаты при рН 5,5.

Пример 3. Устойчивость состава для рН и концентрации белка

Дальнейшая оптимизация состава проводилась путем приготовления различных составов на основе основного состава (Таблица 8) и подбора различных показателей качества.

Таблица 8. Оптимизация подобранных составов (варианты основного состава выделены серым цветом).

Вариант состава	[Белок] мг/мл	рН	Буфер (20 мМ)	Аргинин (мМ)	Метионин (мМ)	Сахароза (%)	PS-80 (%)
Основной состав	220	5,7	Гистидин	150	10		0,05
Основной состав @ 165мг/мл	165	5,7	Гистидин	150	10		0,05
Основной состав @ 280 мг/мл	280	5,7	Гистидин	150	10		0,05
Основной состав @ рН 5,2	220	5,2	Гистидин	150	10		0,05
Основной состав @ рН 6,2	220	6,2	Гистидин	150	10		0,05
Основной состав с 100 мМ аргинина	220	5,7	Гистидин	100	10		0,05

Основной состав без метионина	220	5,7	Гистидин	150	0		0,05
Основной состав с 100 мМ аргинина+ 3% сахарозы	220	5,7	Гистидин	100	0	3	0,05
Основной состав с 20 мМ цитрата	220	5,7	Цитрат	150	10		0,05

На **Фиг.3** продемонстрирована динамика % НМВ при изменении рН при хранении при 25 °С+60% относительной влажности. Скорость увеличения % НМВ с течением времени постоянна во всем этом диапазоне рН.

На **Фиг.4** продемонстрирована динамика % НМВ для разных вспомогательных веществ при хранении при 25 °С+60% относительной влажности. Скорость увеличения % НМВ является постоянной, независимо от того, является ли стабилизирующее вспомогательное вещество 150 мМ L-аргинина HCl+10 мМ метионина, 100 мМ L-аргинина HCl+10 мМ метионина, 150 мМ L-аргинина HCl без метионина или 100 мМ L-аргинина HCl+3% сахарозы.

Пример 4. Аргинин снижает вязкость Составов

Вязкость каждого состава измеряли при температуре окружающей среды (20 °С). Концентрация белка оказывает значительное влияние на вязкость, в то время как другие изменения в составе не оказывали влияния. Вязкости < 50 сП являются оптимальными для процессов производства и способов введения. Составы на основе аргинина обеспечивают стабильно низкую вязкость (~ 20 сП) при высокой концентрации белка (~ 220 мг/мл) (**Фиг. 5**).

Пример 5. Устойчивость состава к концентрации полисорбата-80

Следующие составы были приготовлены для оценки оптимального уровня поверхностно-активного вещества (полисорбат-80) в составе.

Таблица 9. Подбор поверхностно-активного вещества для составов

Концентрация белка (мг/мл)	рН	Буфер	Вспомогательные вещества	% Полисорбат-80
160	5,7	20 мМ гистидин	150 мМ L-аргинин HCl	0,00%

			+ 10 мМ Метионин	0,005%
				0,01%
				0,03%
				0,05%
				0,075%
				0,10%

Исследование влияния встряхивания было выполнено для определения соответствующего уровня содержания поверхностно-активного вещества, необходимого для поддержания стабильности продукта во время физического стресса. Составы в Таблице 9 распределяли в стеклянные флаконы по 3 мл и 1 мл стеклянные шприцы с несъемной иглой, затем перемешивали при 650 об/мин в течение 72 ч при комнатной температуре. Не поддающиеся встряхиванию контрольные образцы хранили в стеклянных флаконах в течение того же времени и при той же температуре.

Результаты % HMW были одинаковыми для всех составов, которые поддавались встряхиванию (Фиг.6). Флаконы с контрольными образцами продемонстрировали постепенное увеличение количества HMW, когда % полисорбата-80 падает с 0,05% до 0,00%. Все результаты находятся в пределах вариабельности (шума) способа ($\pm 0,2\%$) и могут не иметь реальных отличий. Стабильность сопоставима в широком диапазоне % полисорбата-80.

Пример 6. Вспомогательные вещества, содержащие тиольную группу, улучшают агрегационную стабильность состава адуканумаба

Добавление вспомогательных веществ, содержащих тиольную группу, к составу адуканумаба снижает агрегацию, что определяется образованием высокомолекулярных частиц во время хранения.

Контрольный состав адуканумаба содержит 165 мг/мл адуканумаба, 20 мМ гистидинового буфера, 150 мМ L-аргинина HCl, 10 мМ метионина, 0,05% полисорбата-80, pH 5,5. В контрольный состав добавляли вспомогательные вещества, содержащие тиольную группу: GSH и GSSG. Составы хранили при 25 °C и относительной влажности 60%. Как показано на Фиг.7, добавление GSH и GSSG уменьшает образование HMW частиц во время хранения.

В тот же контрольный состав адуканумаба добавляли Цистеин и Цистин. Данные составы также хранили при 25 °C и относительной влажности 60%. Как и в случае GSH и GSGG, добавление Цистеина и Цистина подавляет образование HMW частиц во время хранения (Фиг.8).

Пример 7. Восстановленная форма вспомогательного вещества, содержащего тиольную группу так же эффективна, как окислительно-восстановительная пара при контроле количества HMW

Добавление восстановленной формы вспомогательного вещества, содержащего тиольную группу, оказывает такое же влияние, как и добавление окислительно-

восстановительной пары.

Контрольный состав адуканумаба содержит 165 мг/мл адуканумаба, 20 мМ гистидинового буфера, 150 мМ L-аргинина HCl, 10 мМ метионина, 0,05% полисорбата-80, pH 5,5. В данный состав добавляли GSH+GSSG, только GSH или только GSSG. Составы хранили при 25 °C и относительной влажности 60%. Как показано на **Фиг.9**, добавление GSH, GSSG и GSH+GSSG уменьшило образование HMW частиц.

Пример 8. Вспомогательные вещества, содержащие тиольную группу лучше, чем метионин в контроле количества HMW

Добавление метионина не увеличивает стабильность, наблюдаемую только с GSH.

Контрольный состав с адуканумабом содержит 165 мг/мл адуканумаба, 20 мМ гистидинового буфера, 150 мМ L-аргинина HCl, pH 5,5. GSH или GSH+метионин добавляли к контрольному составу. Данные составы хранили при 25 °C и относительной влажности 60%. Добавление метионина не обеспечивало какой-либо аддитивной выгоды в отношении снижения количества HMW, наблюдаемого только с GSH (**Фиг.10**).

Пример 9. Устойчивость состава, содержащего вспомогательное вещество, содержащее тиольную группу при нескольких концентрациях белка и GSH

Сокращение количества HMW частиц с добавлением GSH наблюдалось при множественных концентрациях белка и множественных концентрациях GSH.

Адуканумаб (165 или 200 мг/мл адуканумаба, 20 мМ гистидинового буфера, 150 мМ L-аргинина HCl, 10 мМ метионина, 0,05% полисорбата-80, pH 5,5) хранили при 25 °C при относительной влажности 60% при различных концентрациях GSH. Как показано на **Фиг.11**, GSH подавляет образование HMW частиц в концентрациях от 0,2 до 1,0 мМ, при концентрациях белка до 200 мг/мл.

Пример 10. Вспомогательное вещество, содержащее тиольную группу в контроле количества HMW при очень низких концентрациях

Концентрации вспомогательного вещества, содержащего тиольную группу, составляющие всего лишь 0,02 мМ, улучшали стабильность адуканумаба при различных концентрациях.

Адуканумаб (165 или 225 мг/мл адуканумаба, 20 мМ гистидинового буфера, 150 мМ L-аргинина HCl, 10 мМ метионина, 0,05% полисорбата-80, pH 5,5) хранили при 25 °C при относительной влажности 60% при различных концентрациях GSH. Как показано на **Фиг.12**, GSH подавляет образование HMW частиц при концентрациях до 0,02 мМ в составах, содержащих до 225 мг/мл адуканумаба.

Пример 11. Эффект увеличения вспомогательного вещества, содержащего тиольную группу, на количество HMW

Этот эксперимент был проведен для оценки влияния увеличения концентрации GSH на снижение количества HMW.

Все протестированные составы содержали 210 мг/мл адуканумаба, 20 мМ гистидинового буфера, 150 мМ аргинина, 10 мМ метионина и 0,05% полисорбата-80 и отличались только концентрацией GSH. Протестированные концентрации GSH

составляли 0 мМ, 0,5 мМ, 1 мМ, 2 мМ и 4 мМ. Образцы хранили при 25 °С, 60% относительной влажности до 4,5 месяцев.

Данные показали, что GSH при 4 мМ оказывает такое же влияние на снижение количества HMW, что и GSH с 0,5 мМ до 2 мМ (см. **Фиг.13**).

Пример 12. Эффект увеличения концентрации метионина на количество HMW

Этот эксперимент был выполнен для оценки влияния увеличения концентрации метионина на снижение количества HMW.

Все протестированные составы содержали 165 мг/мл адуканумаба, 20 мМ гистидинового буфера, 150 мМ аргинина и 0,05% полисорбата-80 и отличались только концентрацией метионина или GSH, как показано на **Фиг.14**. Образцы хранили при 25 °С, 60% относительной влажности (вверху) и 40 °С, 75% относительной влажности (внизу) в течение до 3,5 месяцев.

Этот эксперимент показал, что увеличение концентрации метионина до 150 мМ помогло снизить количество HMW по сравнению с 10 мМ метионина.

Пример 13. 4-недельная переносимость и токсикокинетическое исследование ВПВ037 при внутривенном и подкожном введении яванским макакам

Целью данного исследования было определение переносимости ВПВ037 (концентрация 150 мг/мл в 20 мМ гистидиновом буфере [16,2 мМ L-гистидин моногидрата, 3,8 мМ L-гистидина свободного основания], 150 мМ L-аргинина гидрохлорида (HCl), 10 мМ метионина и 0,05% полисорбата 80, pH 5,5) при внутривенной (в/в) или подкожной (п/к) инъекции один раз в неделю в течение 4 недель 3 яванским макакам на группу. Кроме того, были определены токсикокинетические характеристики испытуемого изделия.

Оба в/в и п/к введения ВПВ037 при 300 мг/кг/дозу один раз в неделю в течение 4 недель (Площадь 22 дня под кривой концентрация-время от времени 0 до времени t [AUC_{0-t}]: 324,000 мкг•ч/мл и 243,000 мкг•ч/мл для в/в и п/к, соответственно) не привели к клиническим отклонениям или неблагоприятным воздействиям на массу тела или потребление пищи. Наблюдения в месте п/к инъекции проводились для одного животного, которому была сделана п/к инъекция после третьей и четвертой недели введений, наблюдения показали наличие неблагоприятной, очень легкой эритемы и/или отека, сопровождаемого вероятно связанной с процедурой легкой очаговой нейтрофильной и мононуклеарной клеточной инфильтрацией и кровоизлиянием (связанной только с четвертым участком инъекции). Абсолютный % биодоступности варьировал от 56,7% до 75,1% для AUC_t на SD 1 и SD 22, что указывает на хорошую кинетику поглощения после п/к введения адуканумаба. Обобщение средних параметров ТК представлено в **Таблице 10**.

Таблица 10. Обобщение средних токсикокинетических параметров в 4-недельном исследовании на самцах яванского макака

Доза	300 мг/кг в/в	300 мг/кг п/к
Количество животных	М (3)	М (3)
1 день		
C_{\max} (мкг/мл)	6 930	1 180
AUC_{τ} (мкг*ч/мл)	236 000	134 000
T_{\max} (ч)	0,083	12 или 24
22 день		
C_{\max} (мкг/мл)	7 070	2 490
AUC_{τ} (мкг * ч/мл)	324 000	243 000
T_{\max} (ч)	от 0,083 до 2	от 12 до 24
$AUC_{\tau} - AUC_{0-t}$ (ТК параметр, используемый в отчете исследования P037-16-01) = площадь под кривой концентрация-время от времени 0 до последней концентрации; C_{\max} = максимальная наблюдаемая концентрация, возникающая при T_{\max} ; SD = учебный день; T_{\max} = время максимальной наблюдаемой концентрации		

Другие варианты реализации

Хотя настоящее изобретение было изложено в сочетании с его подробным описанием, вышеприведенное описание предназначено для иллюстрации, а не для ограничения объема изобретения, который определяется объемом прилагаемой формулы изобретения. Другие аспекты, преимущества и модификации находятся в рамках объема следующей формулы изобретения.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Фармацевтическая композиция, содержащая антитело к бета-амилоиду (A β) или его A β -связывающий фрагмент и гидрохлорид аргинина (Arg.HCl), причем антитело к A β или его A β -связывающий фрагмент содержит переменный домен тяжелой цепи иммуноглобулина (VH) и переменный домен легкой цепи (VL) иммуноглобулина, при этом VH и VL, соответственно, содержат:

(a) определяющие комплементарность области (CDR) VH, причем

VH-CDR1 состоит из аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 1;

VH-CDR2 состоит из аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 2; и

VH-CDR3 состоит из аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 3; и

(b) CDR VL, при этом

VL-CDR1 состоит из аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 4;

VL-CDR2 состоит из аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 5; и

VL-CDR3 состоит из аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 6, и

при этом композиция имеет pH от 5,2 до 6,2.

2. Фармацевтическая композиция по п. 1, в которой композиция содержит антитело к A β или его A β -связывающий фрагмент в концентрации от 50 мг/мл до 250 мг/мл.

3. Фармацевтическая композиция по п. 1, в которой композиция содержит антитело к A β или его A β -связывающий фрагмент в концентрации от 75 мг/мл до 165 мг/мл.

4. Фармацевтическая композиция по п. 1, в которой композиция содержит антитело к A β или его A β -связывающий фрагмент в концентрации 150 мг/мл.

5. Фармацевтическая композиция по п.1, содержащая антитело к A β или его A β -связывающий фрагмент в концентрации 100 мг/мл.

6. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-5, в которой композиция содержит Arg.HCl в концентрации от 50 mM до 250 mM.

7. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-5, в которой композиция содержит Arg.HCl в концентрации от 75 mM до 175 mM.

8. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-5, в которой композиция содержит Arg.HCl в концентрации 150 mM.

9. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-8, в которой композиция содержит полисорбат-80 (PS80).

10. Фармацевтическая композиция по п. 9, в которой композиция содержит PS80 в концентрации от 0,01% до 0,1%.

11. Фармацевтическая композиция по п. 9, в которой композиция содержит PS80 в

концентрации от 0,03% до 0,08%.

12. Фармацевтическая композиция по п. 9, в которой композиция содержит PS80 в концентрации 0,05%.

13. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-12, в которой композиция содержит буфер, выбранный из группы, состоящей из гистидина, ацетата, сукцината и цитрата.

14. Фармацевтическая композиция по п. 13, в которой композиция содержит гистидин, ацетат, сукцинат или цитрат в концентрации от 10 мМ до 30 мМ.

15. Фармацевтическая композиция по п. 13, в которой композиция содержит гистидин, ацетат, сукцинат или цитрат в концентрации 20 мМ.

16. Фармацевтическая композиция по п. 13, в которой буфер представляет собой гистидин.

17. Фармацевтическая композиция по п. 16, в которой гистидин содержится в концентрации от 10 мМ до 30 мМ.

18. Фармацевтическая композиция по п. 16, в которой гистидин содержится в концентрации 20 мМ.

19. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-18, в которой композиция содержит метионин.

20. Фармацевтическая композиция по п. 19, в которой метионин содержится в концентрации от 0,01 мМ до 150 мМ.

21. Фармацевтическая композиция по п. 19, в которой метионин содержится в концентрации от 5 мМ до 15 мМ.

22. Фармацевтическая композиция по п. 19, в которой метионин содержится в концентрации 10 мМ.

23. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-22, в которой композиция содержит сахарозу.

24. Фармацевтическая композиция по п. 23, в которой композиция содержит сахарозу в концентрации от 0,01% до 3%.

25. Фармацевтическая композиция по п. 23, в которой композиция содержит сахарозу в концентрации 3%.

26. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-25, в которой композиция имеет рН от 5,2 до 6,0.

27. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-26, в которой композиция имеет рН от 5,3 до 5,7.

28. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-27, в которой композиция рН имеет 5,5.

29. Фармацевтическая композиция по п. 1, в которой композиция содержит:
антитело к Аβ или его Аβ-связывающий фрагмент в концентрации от 50 мг/мл до 250 мг/мл;

Arg.HCl в концентрации от 50 мМ до 200 мМ;

метионин в концентрации от 0 мМ до 150 мМ;
гистидин в концентрации от 10 мМ до 30 мМ;
PS80 в концентрации от 0,01% до 0,1%;
сахарозу в концентрации от 0 до 3%; и
при этом композиция имеет рН от 5,2 до 6,0.

30. Фармацевтическая композиция по п. 1, в которой композиция содержит:
антитело к А β или его связывающий А β фрагмент в концентрации 150 мг/мл;
Arg.HCl в концентрации 150 мМ;
метионин в концентрации 10 мМ;
гистидин в концентрации 20 мМ; и
PS80 в концентрации 0,05%,
при этом композиция имеет рН 5,5.

31. Фармацевтическая композиция по п. 1, в которой композиция содержит:
антитело к А β или его связывающий А β фрагмент в концентрации 100 мг/мл;
Arg.HCl в концентрации 150 мМ;
метионин в концентрации 10 мМ;
гистидин в концентрации 20 мМ; и
PS80 в концентрации 0,05%,
при этом композиция имеет рН 5,5.

32. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-31, в которой:

(i) VH состоит из последовательности по меньшей мере на 80% идентичной SEQ ID NO: 7, и VL состоит из последовательности по меньшей мере на 80% идентичной SEQ ID NO: 8;

(ii) VH состоит из последовательности по меньшей мере на 90% идентичной SEQ ID NO: 7, и VL состоит из последовательности по меньшей мере на 90% идентичной SEQ ID NO: 8; или

(iii) VH состоит из аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 7, и VL состоит из аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 8.

33. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-32, в которой антитело к А β содержит тяжелую цепь иммуноглобулина и легкую цепь иммуноглобулина, причем:

(i) тяжелая цепь состоит из последовательности по меньшей мере на 80% идентичной SEQ ID NO: 9, и легкая цепь состоит из последовательности по меньшей мере на 80% идентичной SEQ ID NO: 10;

(ii) тяжелая цепь состоит из последовательности по меньшей мере на 90% идентичной SEQ ID NO: 9, и легкая цепь состоит из последовательности по меньшей мере на 90% идентичной SEQ ID NO: 10; или

(iii) тяжелая цепь состоит из аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 9, и легкая цепь состоит из аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 10.

34. Способ лечения аномального накопления или отложения Аβ в центральной нервной системе у нуждающегося в этом субъекта-человека, причем способ включает введение субъекту-человеку фармацевтической композиции по любому из пп. 1-33.

35. Способ лечения умеренного когнитивного нарушения у нуждающегося в этом субъекта-человека, причем способ включает введение субъекту-человеку фармацевтической композиции по любому из пп. 1-33.

36. Способ лечения болезни Альцгеймера у нуждающегося в этом субъекта-человека, причем способ включает введение субъекту-человеку фармацевтической композиции по любому из пп. 1-33.

37. Способ по любому из пп. 34-36, в котором фармацевтическую композицию вводят субъекту-человеку подкожно.

38. Способ по любому из пп. 34-36, в котором фармацевтическую композицию вводят субъекту-человеку внутривенно.

39. Фармацевтическая композиция, содержащая антитело к бета-амилоиду (Аβ) или его Аβ-связывающий фрагмент, тиолсодержащий антиоксидант и гидрохлорид аргинина (Arg.HCl), причем антитело к Аβ или его Аβ-связывающий фрагмент содержит переменный домен тяжелой цепи (VH) иммуноглобулина и переменный домен легкой цепи (VL) иммуноглобулина, при этом VH и VL, соответственно, содержат:

(а) определяющие комплементарность области (CDR) VH, причем

VH-CDR1 состоит из аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 1;

VH-CDR2 состоит из аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 2; и

VH-CDR3 состоит из аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 3; и

(b) CDR VL, при этом

VL-CDR1 состоит из аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 4;

VL-CDR2 состоит из аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 5; и

VL-CDR3 состоит из аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 6; и

при этом композиция имеет рН от 5,2 до 6,2.

40. Фармацевтическая композиция по п. 39, в которой композиция содержит антитело к Аβ или его Аβ-связывающий фрагмент в концентрации от 50 мг/мл до 250 мг/мл.

41. Фармацевтическая композиция по п. 39, в которой композиция содержит антитело к Аβ или его Аβ-связывающий фрагмент в концентрации от 75 мг/мл до 165 мг/мл.

42. Фармацевтическая композиция по п. 39, в которой композиция содержит

антитело к Аβ или его Аβ-связывающий фрагмент в концентрации 150 мг/мл.

43. Фармацевтическая композиция по п. 39, в которой композиция содержит антитело к Аβ или его Аβ-связывающий фрагмент в концентрации 100 мг/мл.

44. Фармацевтическая композиция по пп. 39-43, в которой тиолсодержащий антиоксидант выбран из группы, состоящей из GSH, GSSG, комбинации GSH и GSSG, цистина, цистеина и комбинации цистеина и цистина.

45. Фармацевтическая композиция по п. 44, в которой тиолсодержащий антиоксидант представляет собой GSH.

46. Фармацевтическая композиция по п. 44, в которой тиолсодержащий антиоксидант представляет собой GSSG.

47. Фармацевтическая композиция по п. 44, в которой тиолсодержащий антиоксидант представляет собой комбинацию GSH и GSSG.

48. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 39-47, в которой тиолсодержащий антиоксидант содержится в концентрации от 0,02 мМ до 4 мМ.

49. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 39-47, в которой тиолсодержащий антиоксидант содержится в концентрации 0,2 мМ.

50. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 39-47, в которой тиолсодержащий антиоксидант содержится в концентрации 0,4 мМ.

51. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 39-47, в которой тиолсодержащий антиоксидант содержится в концентрации 1 мМ.

52. Фармацевтическая композиция по п. 47, в которой GSH содержится в концентрации 0,4 мМ и GSSG содержится в концентрации 0,2 мМ.

53. Фармацевтическая композиция по п. 44, в которой тиолсодержащий антиоксидант представляет собой комбинацию цистеина и цистина, причем цистеин содержится в концентрации 0,4 мМ, а цистин содержится в концентрации 0,2 мМ.

54. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 39-53, в которой композиция содержит Arg.HCl в концентрации от 50 мМ до 250 мМ.

55. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 39-53, в которой композиция содержит Arg.HCl в концентрации от 75 мМ до 175 мМ.

56. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 39-53, в которой композиция содержит Arg.HCl в концентрации 150 мМ.

57. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 39-56, в которой композиция содержит полисорбат-80 (PS80).

58. Фармацевтическая композиция по п. 57, в которой композиция содержит PS80 в концентрации от 0,01% до 0,1%.

59. Фармацевтическая композиция по п. 57, в которой композиция содержит PS80 в концентрации от 0,03% до 0,08%.

60. Фармацевтическая композиция по п. 57, в которой композиция содержит PS80 в концентрации 0,05%.

61. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 39-60, в которой композиция

содержит буфер, выбранный из группы, состоящей из гистидина, ацетата, сукцината и цитрата.

62. Фармацевтическая композиция по п. 61, в которой композиция содержит гистидин, ацетат, сукцинат или цитрат в концентрации от 10 мМ до 30 мМ.

63. Фармацевтическая композиция по п. 61, в которой композиция содержит гистидин, ацетат, сукцинат или цитрат в концентрации 20 мМ.

64. Фармацевтическая композиция по п. 61, в которой буфер представляет собой гистидин.

65. Фармацевтическая композиция по п. 64, в которой гистидин содержится в концентрации от 10 мМ до 30 мМ.

66. Фармацевтическая композиция по п. 64, в которой гистидин содержится в концентрации 20 мМ.

67. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 39-66, в которой композиция содержит сахарозу.

68. Фармацевтическая композиция по п. 67, в которой композиция содержит сахарозу в концентрации от 0,01% до 3%.

69. Фармацевтическая композиция по п. 67, в которой композиция содержит сахарозу в концентрации от 1% до 3%.

70. Фармацевтическая композиция по п. 67, в которой композиция содержит сахарозу в концентрации 3%.

71. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 39-70 в которой композиция имеет рН от 5,2 до 6,0.

72. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 39-70 в которой композиция имеет рН от 5,3 до 5,7.

73. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 39-70, в которой композиция имеет рН 5,5.

74. Фармацевтическая композиция по п. 39, в которой композиция содержит: антитело к Аβ или его Аβ-связывающий фрагмент в концентрации от 50 мг/мл до 250 мг/мл;

Arg.HCl в концентрации от 50 мМ до 200 мМ;

тиолсодержащий антиоксидант в концентрации от 0,02 мМ до 4 мМ;

гистидин в концентрации от 10 мМ до 30 мМ;

PS80 в концентрации от 0,01% до 0,1%;

сахарозу в концентрации от 0 до 3%; и

при этом композиция имеет рН от 5,2 до 6,0.

75. Фармацевтическая композиция по п. 39, в которой композиция содержит: антитело к Аβ или его связывающий Аβ фрагмент в концентрации 150 мг/мл;

Arg.HCl в концентрации 150 мМ;

тиолсодержащий антиоксидант в концентрации от 0,02 мМ до 4 мМ;

гистидин в концентрации 20 мМ; и

PS80 в концентрации 0,05%,
при этом композиция имеет pH 5,5.

76. Фармацевтическая композиция по п. 39, в которой композиция содержит:
антитело к A β или его связывающий A β фрагмент в концентрации 100 мг/мл;
Arg.HCl в концентрации 150 мМ;
тиолсодержащий антиоксидант в концентрации от 0,02 мМ до 2 мМ;
гистидин в концентрации 20 мМ; и
PS80 в концентрации 0,05%,
при этом композиция имеет pH 5,5.

77. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 74-76, в которой тиолсодержащий антиоксидант выбран из группы, состоящей из GSH, GSSG, комбинации GSH и GSSG, цистина, цистеина и комбинации цистеина и цистина.

78. Фармацевтическая композиция по п. 77, в которой тиолсодержащий антиоксидант представляет собой GSH.

79. Фармацевтическая композиция по п. 77, в которой тиолсодержащий антиоксидант представляет собой GSSG.

80. Фармацевтическая композиция по п. 77, в которой тиолсодержащий антиоксидант представляет собой комбинацию GSH и GSSG.

81. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 39-80, дополнительно содержащая метионин.

82. Фармацевтическая композиция по п. 81, в которой метионин содержится в концентрации от 0,01 мМ до 150 мМ.

83. Фармацевтическая композиция по п. 81, в которой метионин содержится в концентрации от 5 мМ до 20 мМ.

84. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 39-83, в которой:

(i) VH состоит из последовательности по меньшей мере на 80% идентичной SEQ ID NO: 7, и VL состоит из последовательности по меньшей мере на 80% идентичной SEQ ID NO: 8;

(ii) VH состоит из последовательности по меньшей мере на 90% идентичной SEQ ID NO: 7, и VL состоит из последовательности по меньшей мере на 90% идентичной SEQ ID NO: 8; или

(iii) VH состоит из аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 7, и VL состоит из аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 8.

85. Фармацевтическая композиция по пп. 39-84, в которой антитело к A β содержит тяжелую цепь иммуноглобулина и легкую цепь иммуноглобулина, причем

(i) тяжелая цепь состоит из последовательности по меньшей мере на 80% идентичной SEQ ID NO: 9, и легкая цепь состоит из последовательности по меньшей мере на 80% идентичной SEQ ID NO: 10;

(ii) тяжелая цепь состоит из последовательности по меньшей мере на 90%

идентичной SEQ ID NO: 9, и легкая цепь состоит из последовательности по меньшей мере на 90% идентичной SEQ ID NO: 10; или

(iii) тяжелая цепь состоит из аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 9, и легкая цепь состоит из аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 10.

86. Способ лечения аномального накопления или отложения A β в центральной нервной системе у нуждающегося в этом субъекта-человека, причем способ включает введение субъекту-человеку фармацевтической композиции по любому из пп. 39-85.

87. Способ лечения умеренного когнитивного нарушения у нуждающегося в этом субъекта-человека, причем способ включает введение субъекту-человеку фармацевтической композиции по любому из пп. 39-85.

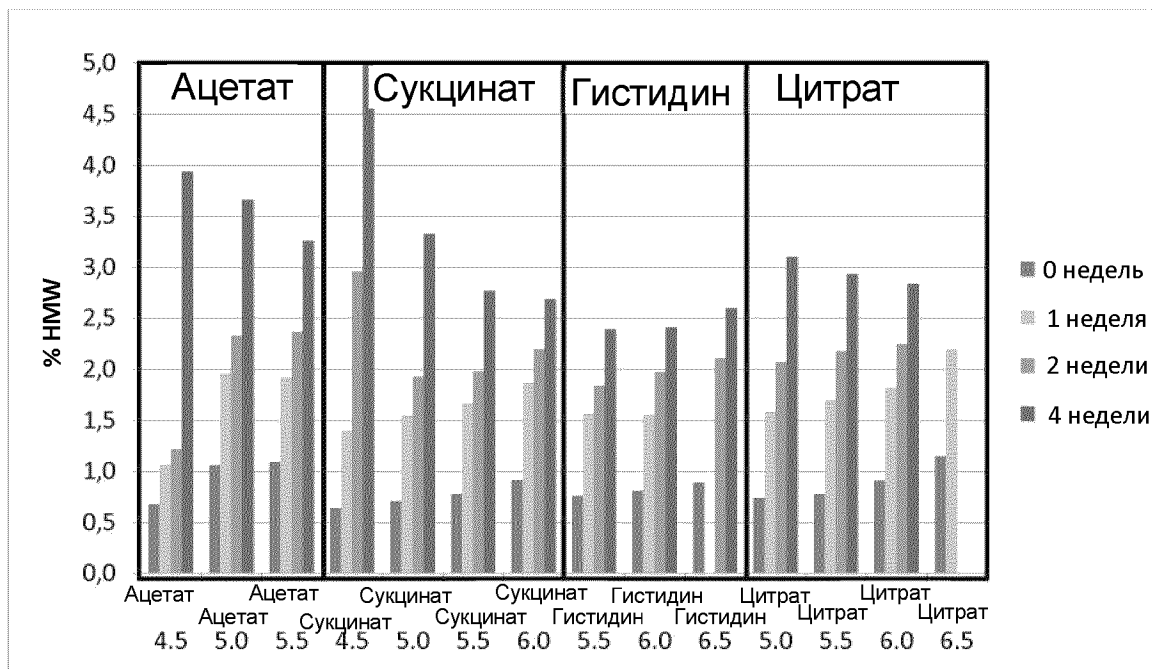
88. Способ лечения болезни Альцгеймера у нуждающегося в этом субъекта-человека, причем способ включает введение субъекту-человеку фармацевтической композиции по любому из пп. 39-85.

89. Способ по любому из пп. 86-88, в котором фармацевтическую композицию вводят субъекту-человеку подкожно.

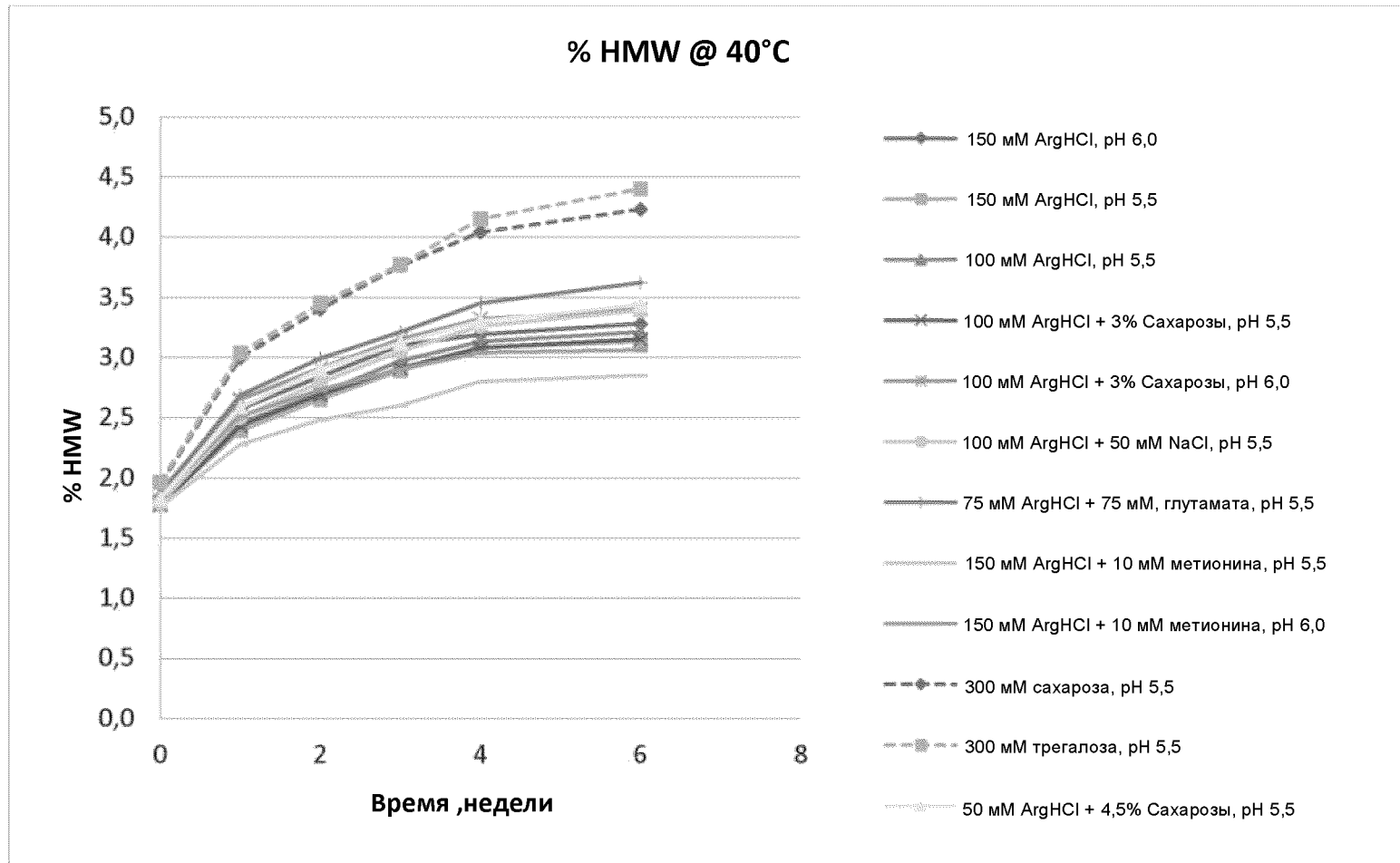
90. Способ по любому из пп. 86-88, в котором фармацевтическую композицию вводят субъекту-человеку внутривенно.

По доверенности

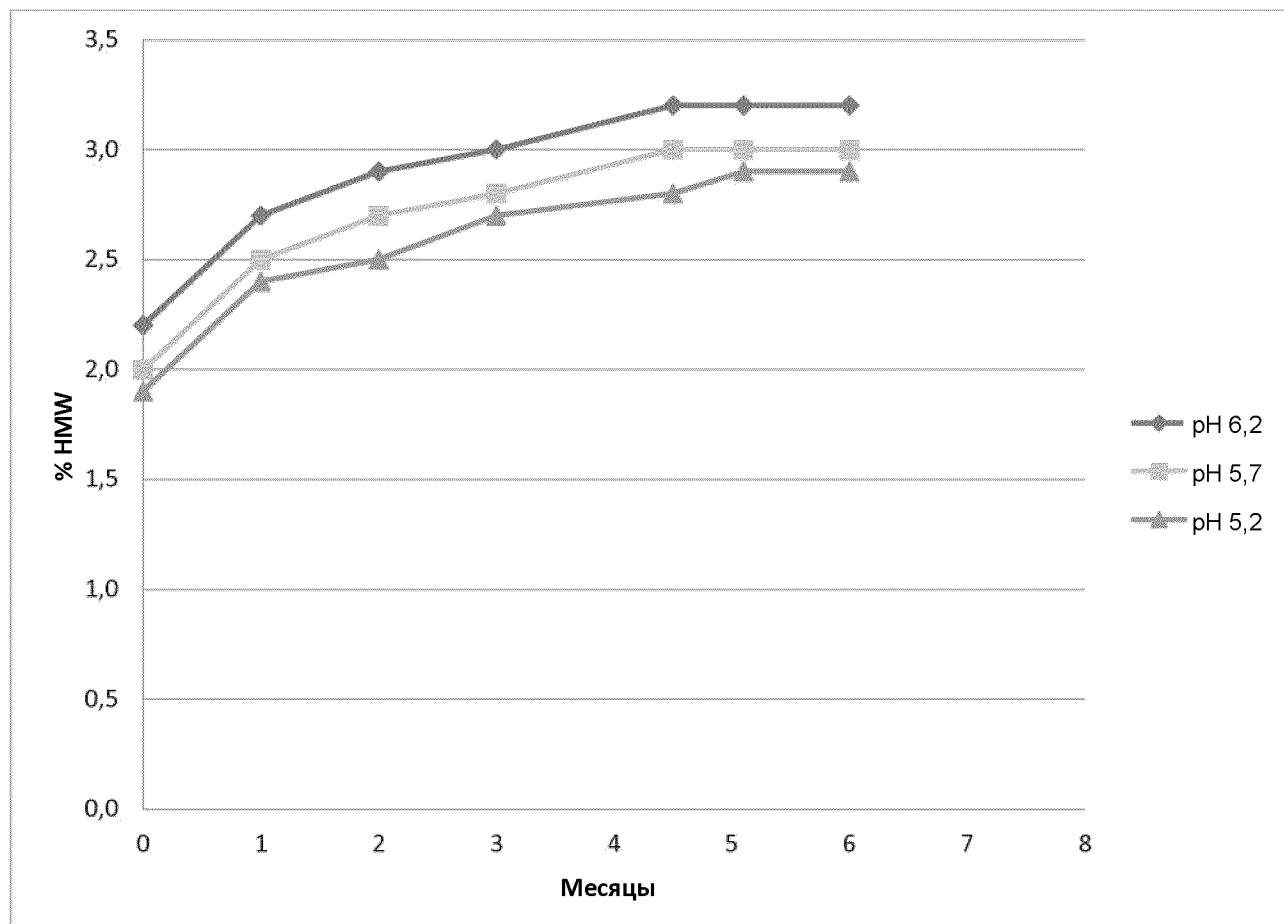
ФИГ. 1



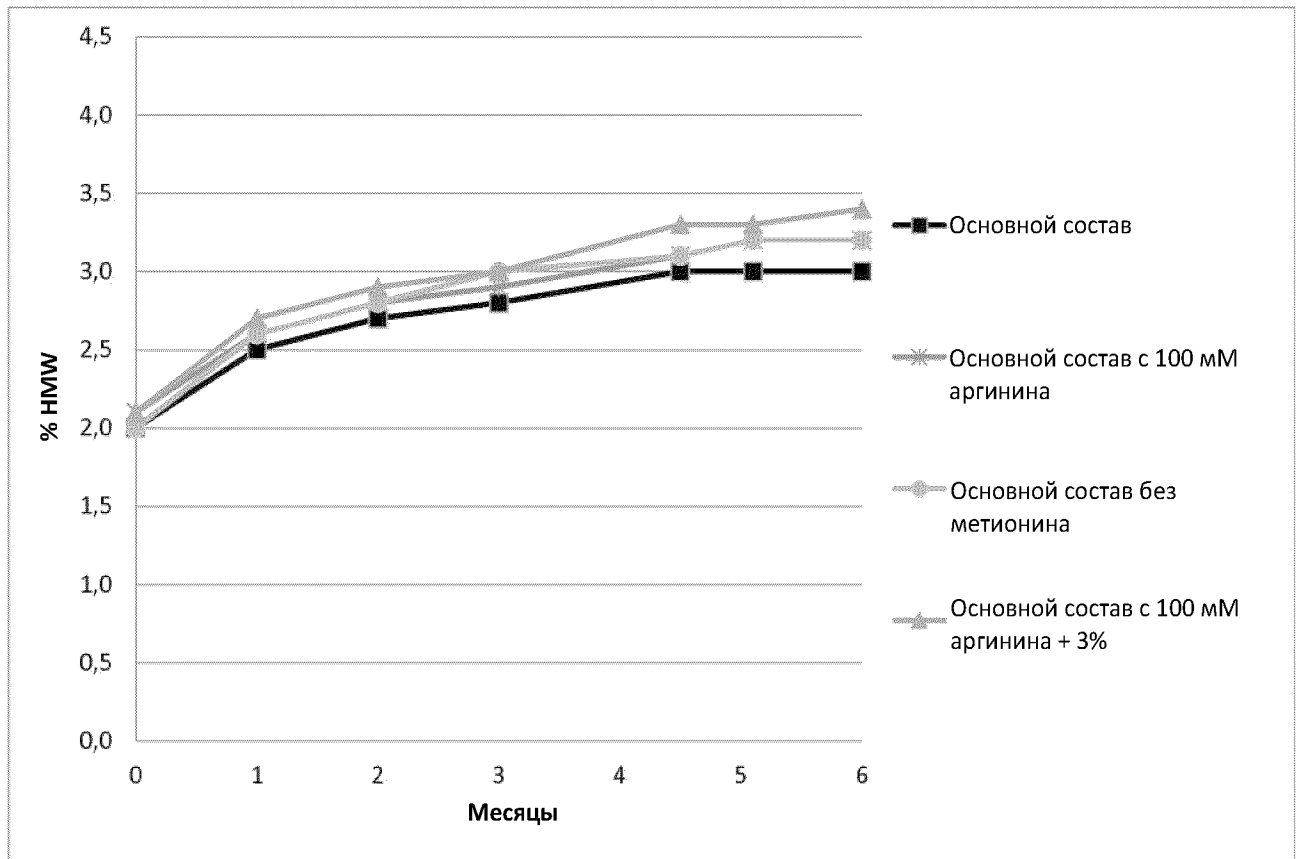
ФИГ. 2



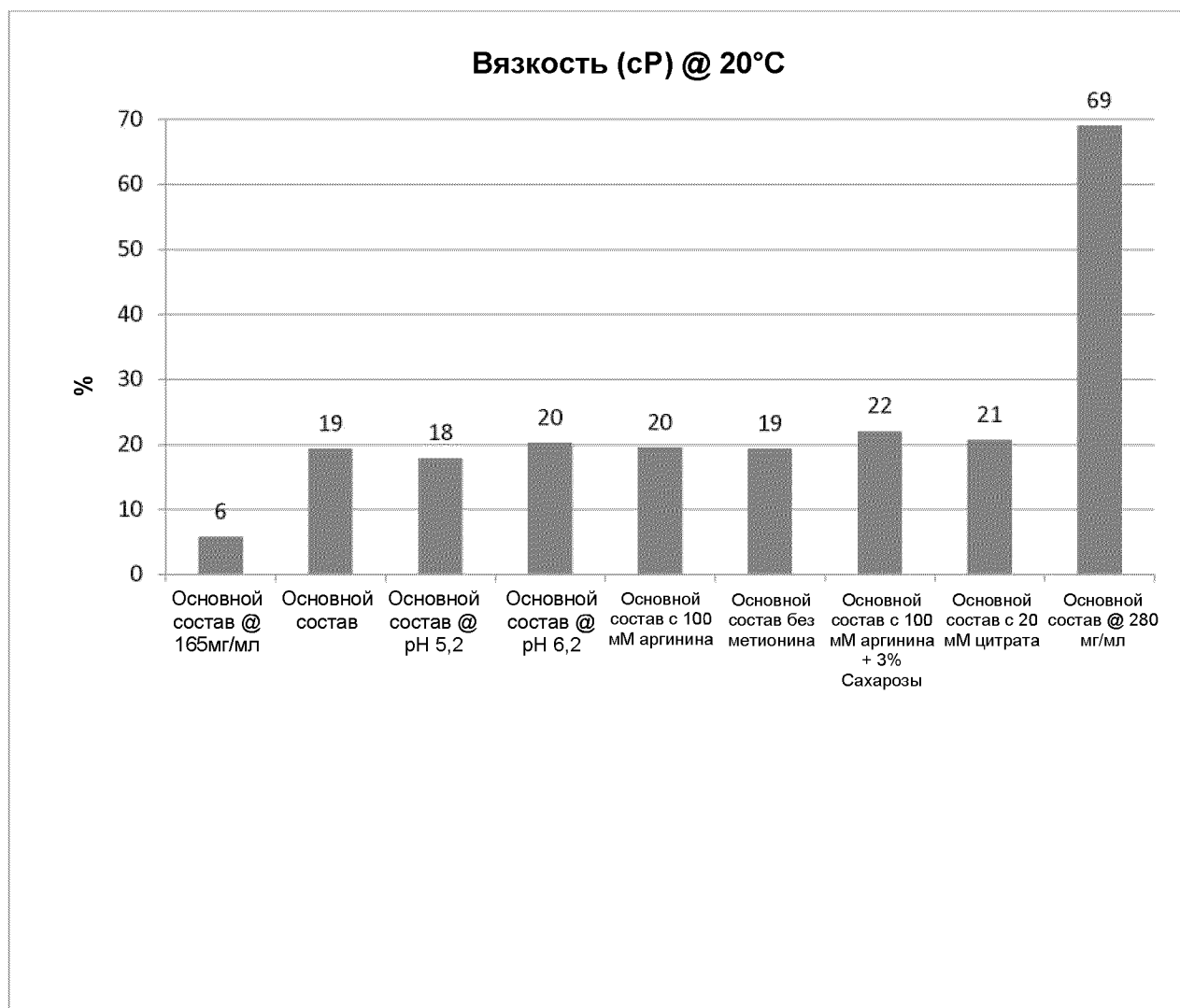
ФИГ. 3



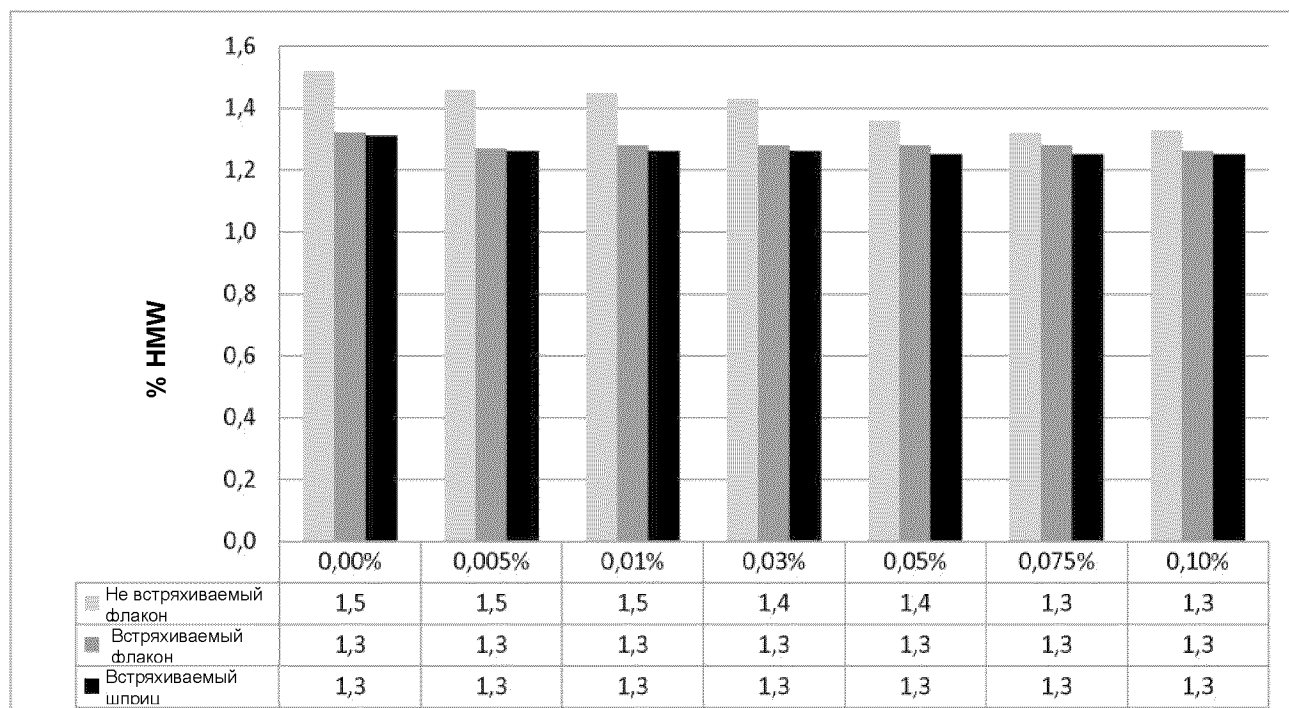
ФИГ. 4



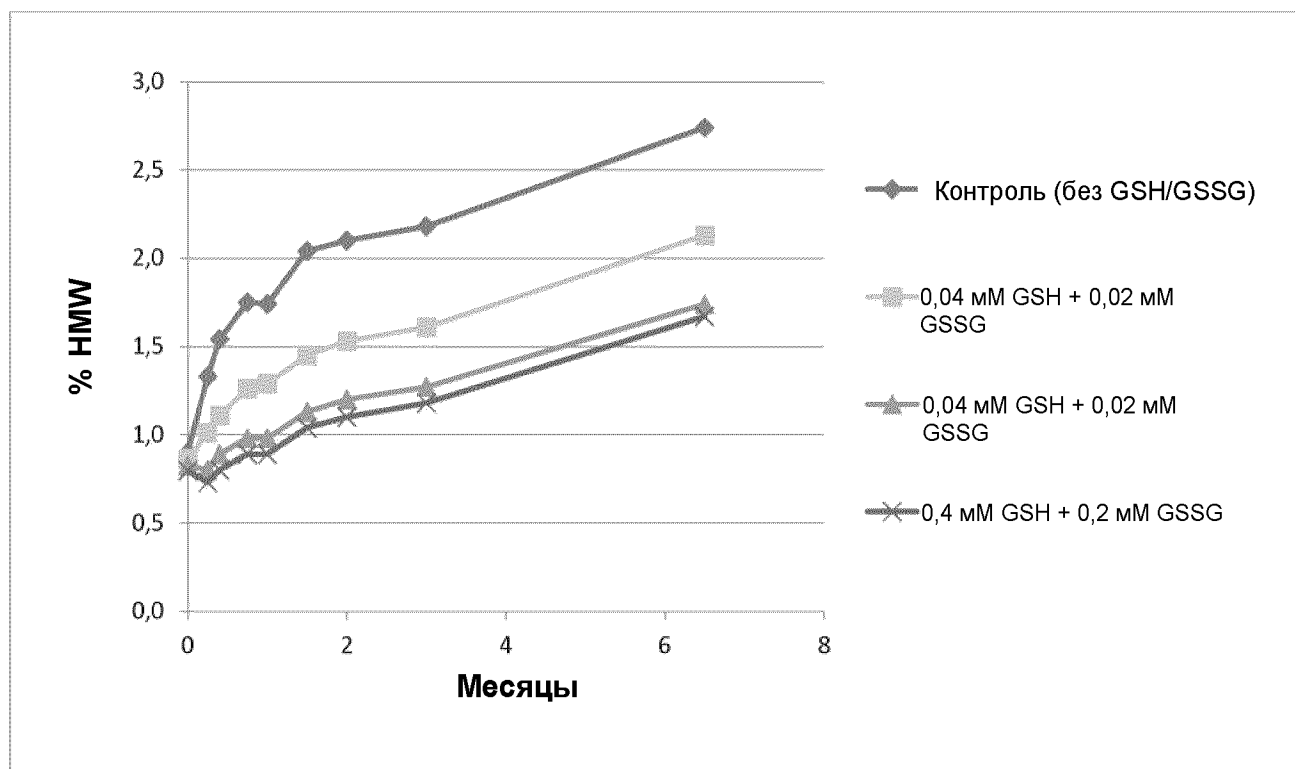
ФИГ. 5



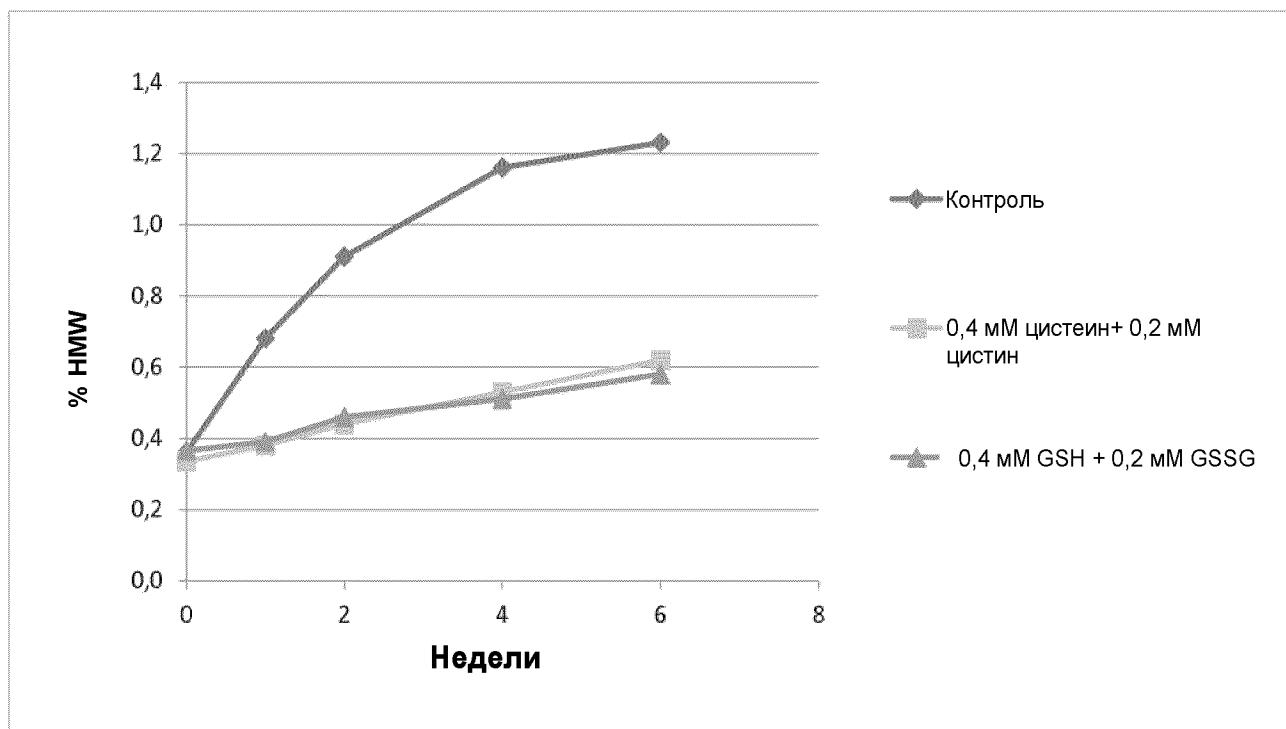
ФИГ. 6



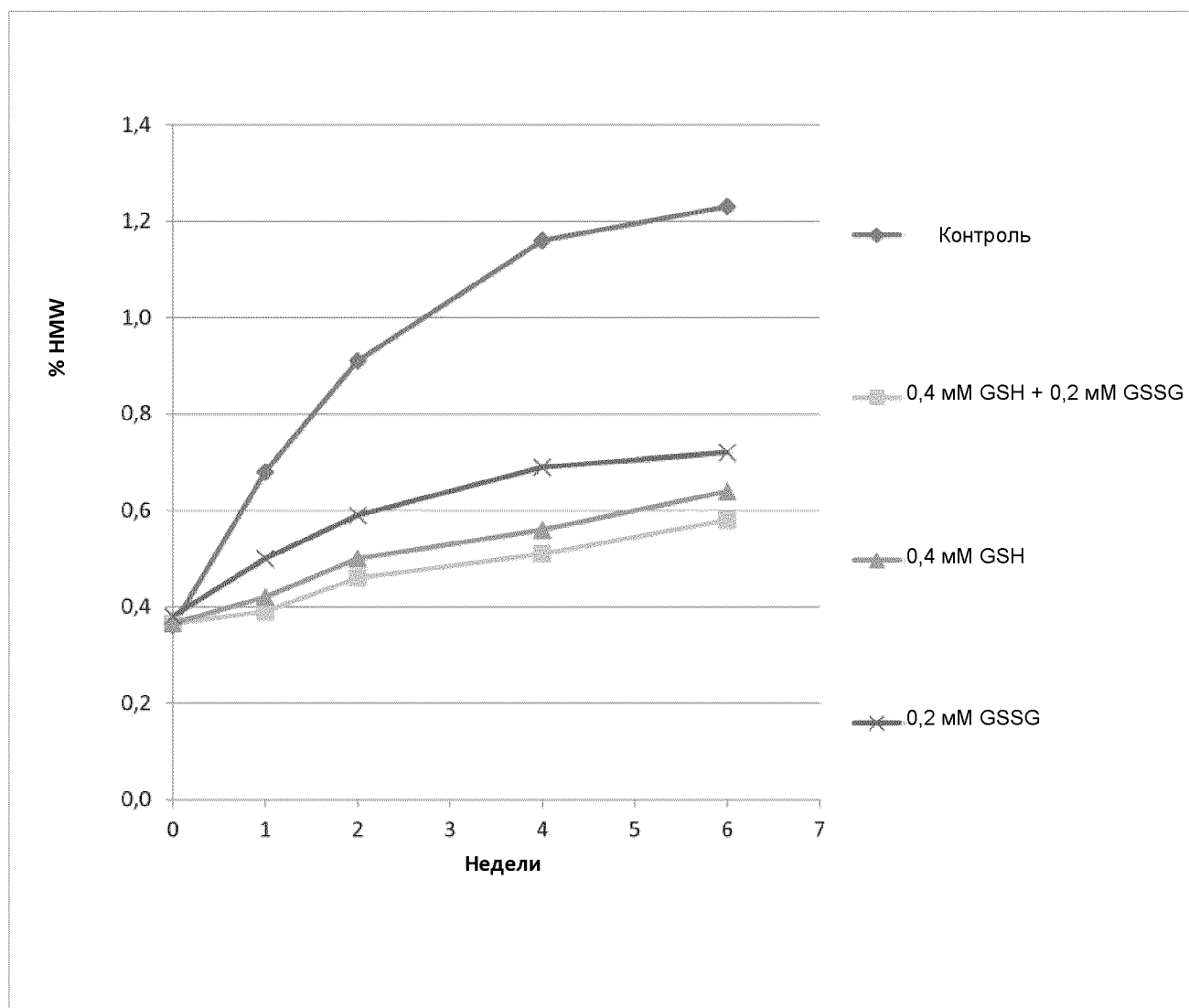
ФИГ. 7



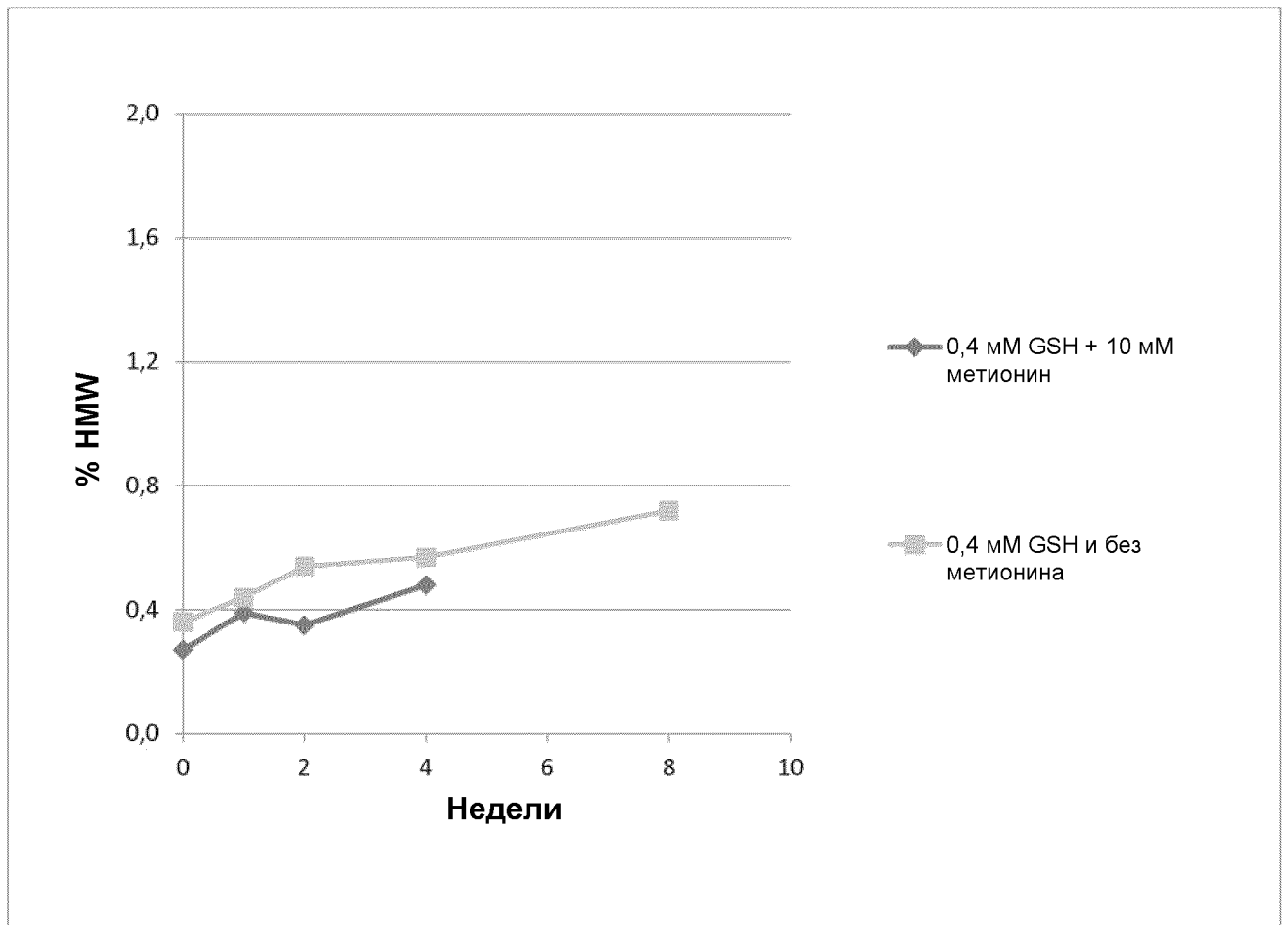
ФИГ. 8



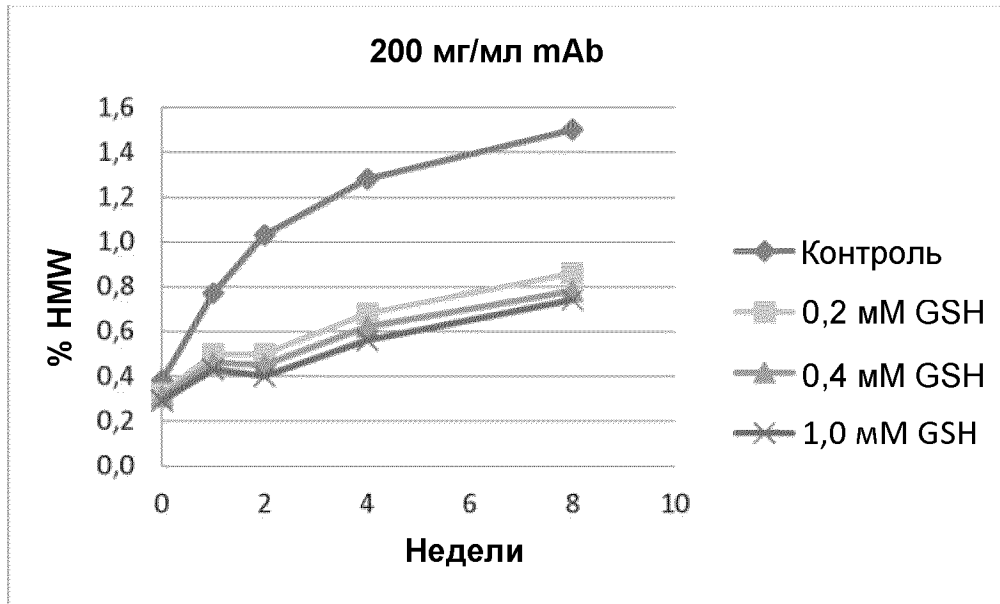
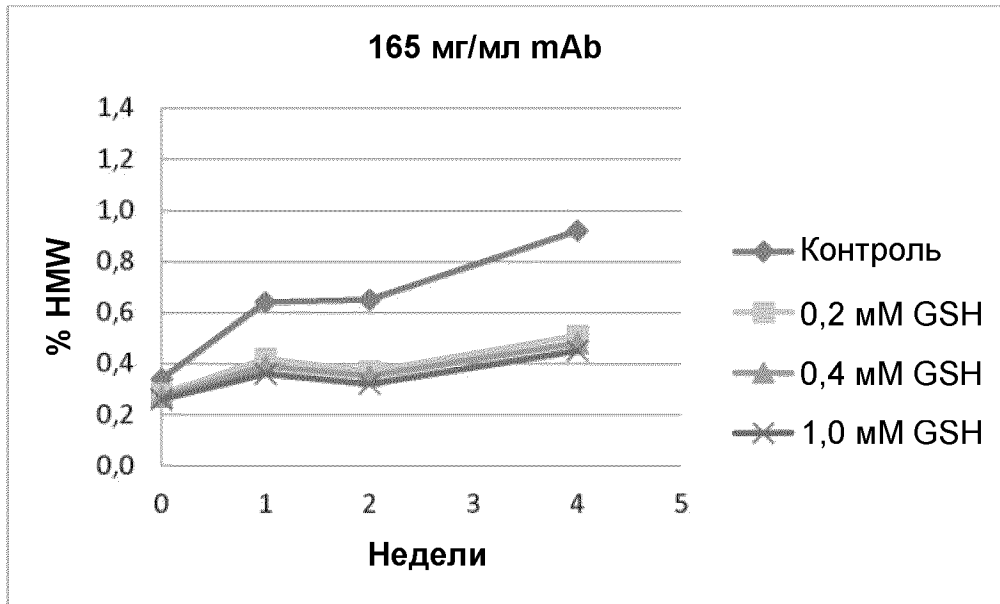
ФИГ. 9



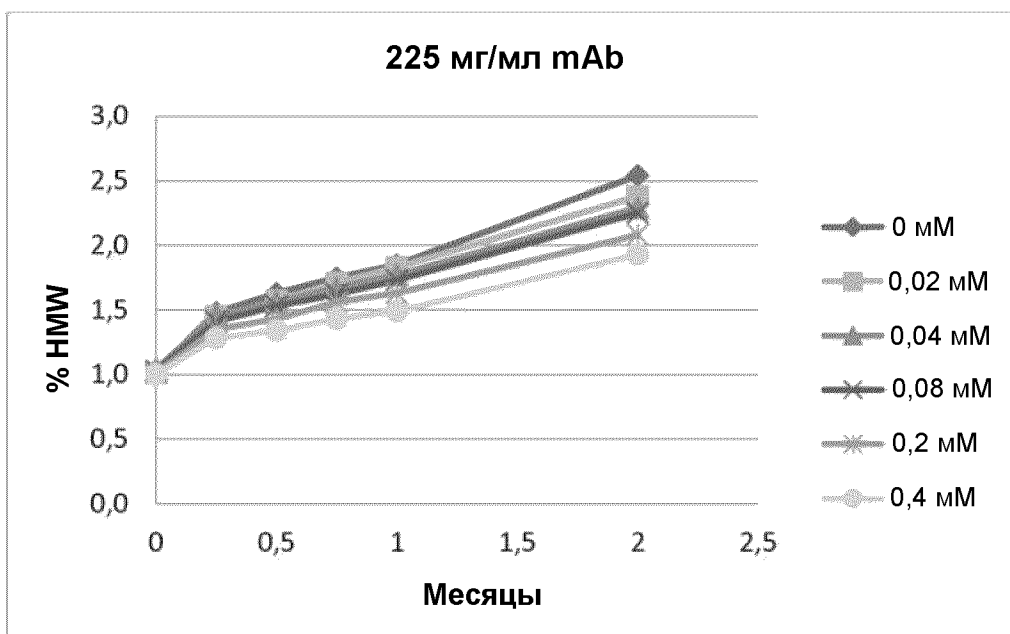
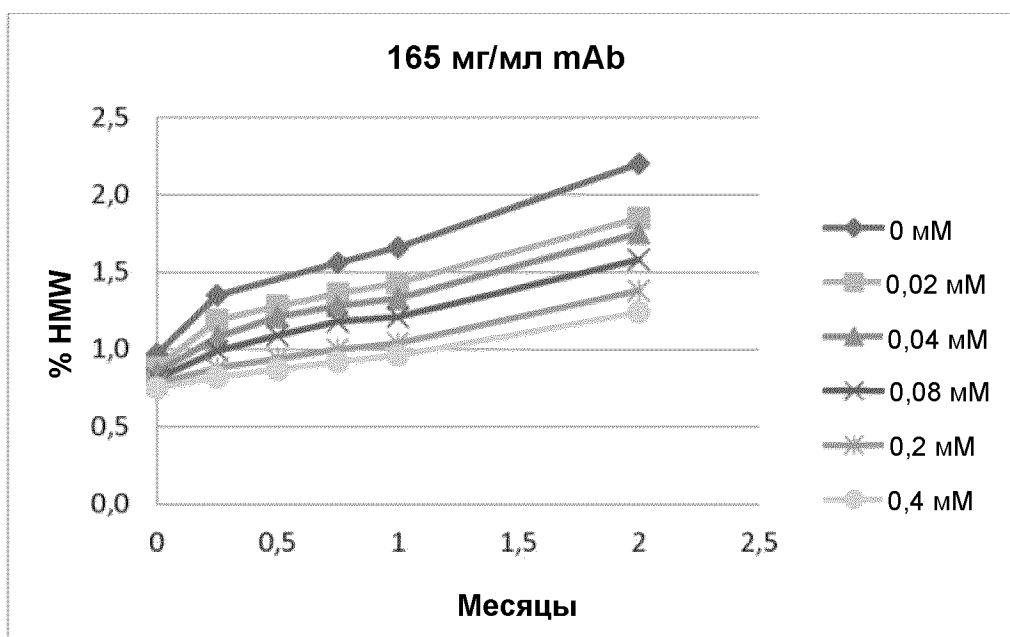
ФИГ. 10



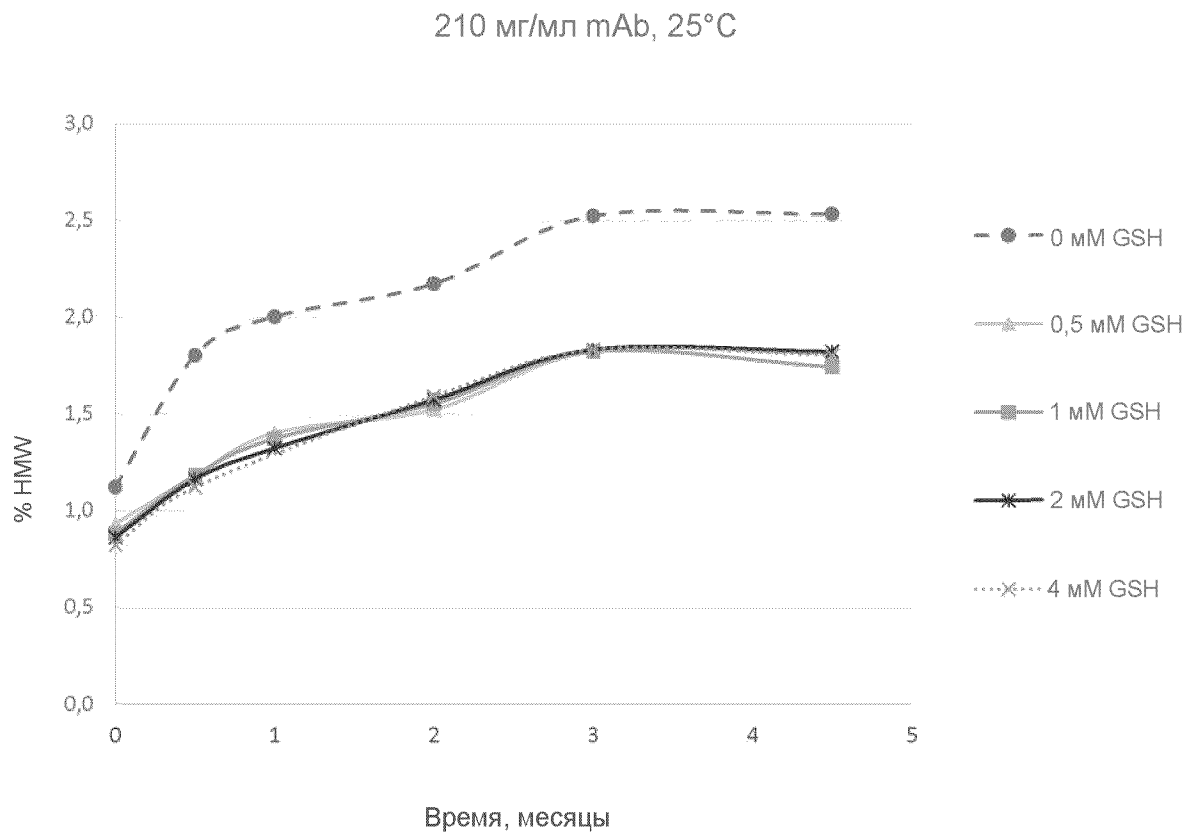
ФИГ. 11



ФИГ. 12



ФИГ. 13



ФИГ. 14

