

(19)



Евразийское  
патентное  
ведомство

(21) 202290600 (13) A1

## (12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки  
2022.07.01(22) Дата подачи заявки  
2020.08.14(51) Int. Cl. C07K 16/18 (2006.01)  
A61K 9/00 (2006.01)  
A61K 47/12 (2006.01)  
A61K 47/18 (2017.01)  
A61K 47/26 (2006.01)  
A61K 9/08 (2006.01)  
A61K 39/00 (2006.01)

## (54) ВЫСОКОКОНЦЕНТРИРОВАННЫЕ КОМПОЗИЦИИ АНТИ-C5

(31) 62/888,086

(32) 2019.08.16

(33) US

(86) PCT/US2020/046314

(87) WO 2021/034639 2021.02.25

(71) Заявитель:

РИДЖЕНЕРОН

ФАРМАСЬЮТИКАЛЗ, ИНК. (US)

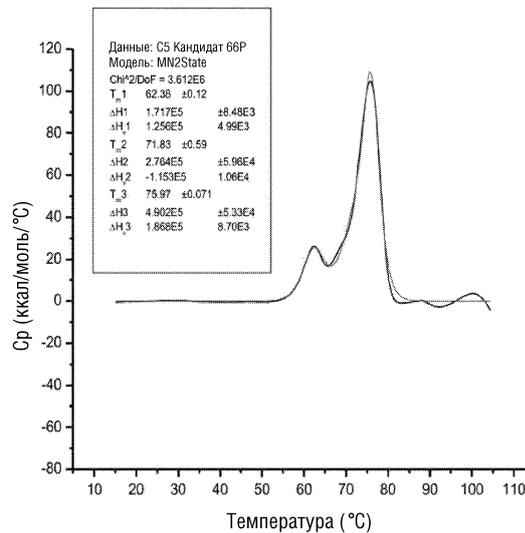
(72) Изобретатель:

Клепп Мэри, Пател Маянк, Тан  
Сяолинь (US)

(74) Представитель:

Медведев В.Н. (RU)

(57) Настоящее изобретение включает высококонцентрированные фармацевтические композиции с низкой вязкостью, которые включают анти-C5 антитело или его антигенсвязывающий фрагмент и аргинин. Такие композиции могут быть предоставлены в сочетании с молекулой РНКи, такой как цемдисирин. Также представлены способы лечения C5-ассоциированных заболеваний, таких как PNH и aHUS.



A1

202290600

202290600

A1

## ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

2420-572921EA/032

### ВЫСОКОКОНЦЕНТРИРОВАННЫЕ КОМПОЗИЦИИ АНТИ-С5

Настоящая заявка заявляет приоритет предварительной патентной заявки США № 62/888086, поданной 16 августа 2019 г., которая включена в настоящую заявку посредством ссылки во всей полноте для всех целей.

Перечень последовательностей настоящей заявки представлен в электронном виде в виде перечня последовательностей в формате ASCII с именем файла "10643seqlist", датой создания 11 августа 2020 г. и размером 136 КБ. Представленный перечень последовательностей является частью описания и включен в настоящую заявку посредством ссылки во всей полноте.

#### **Область, к которой относится изобретение**

Область изобретения относится к фармацевтическим композициям, включающим антитела и их антигенсвязывающие фрагменты, и к способам лечения с использованием таких композиций.

#### **Предпосылки создания изобретения**

Фармацевтические композиции для доставки высокой дозы антитела или другого полипептида в умеренном объеме представляют проблему из-за получаемой высокой вязкости. По мере увеличения концентрации антитела вязкость композиции обычно возрастает экспоненциально. Yadav et al., J Pharm Sci. 99 (12) 4812-29 (2010). Например, Симзия содержит пегилированный Fab-фрагмент при концентрации 200 мг/мл и вязкости около 80 сПз (относительно высокая вязкость). См. "Innovative Drug Delivery Technology to Meet Evolving Need of Biologics & Small Molecules," ONdrugDelivery Magazine, Issue 56 (Mar 2015), pp 4-6.

Вязкие растворы требуют большой силы инъекционного введения через иглу для введения лекарственного средства, и также может потребоваться более длительное время инъекции. Боль и дискомфорт, испытываемые пациентом во время длительных инъекций, могут отрицательно сказаться на соблюдении режима и выполнении требований лечения. Кроме того, потенциальная потеря продукта, которая может возникнуть в результате прилипания высоковязких растворов к контактной поверхности первичной упаковки, также может быть проблемой. Если доставка лекарственного средства осуществляется через автоинжектор, задача будет состоять в том, чтобы гарантировать, что устройство может создавать необходимую силу для правильного функционирования в течение всего срока годности, что требует тщательного моделирования и ускоренного старения для имитации высокой нагрузки, воздействующей на устройство.

Приемлемые подкожные (п/к) композиции на основе терапевтических анти-С5 антител особенно трудно разработать. Поскольку концентрация С5 в плазме относительно высока (приблизительно 80 мкг/мл), обычно требуется большое количество антител для блокирования на терапевтическом уровне. Holers, Annu Rev Immunol 32: 433-459 (2014). Подкожное введение обычно предпочтительно с учетом удобства для пациента.

Подкожные инъекции обычно может вводить сам пациент, тогда как внутривенное (в/в) введение должно осуществляться врачом/в клинике. Например, экулизумаб был одобрен для лечения различных С5-опосредованных заболеваний. Пациентам вводят большое количество (900-1200 мг) экулизумаба каждые две недели, и эта огромная доза требует внутривенного введения. Holers (2014). Еще одно одобренное терапевтическое анти-С5 антитело, равулизумаб (продается как Ultomoris), вводят при внутривенно на еще более высоких уровнях, 2400-3000 мг. Ultomoris вводят подкожно еженедельно при 700 мг из 100 мг/мл композиции (объем дозы 7 мл вводят двумя отдельными инъекциями). Alexion Pharmaceuticals, Inc., Investor Day presentation (March 20, 2019). Как обсуждалось, большие объемы п/к доз создают проблемы, например, из-за длительного периода времени, необходимого для введения полной дозы. Для устройства, обеспечивающего скорость введения 1 мл/мин, потребуется 7 минут. За это время могут возникать ошибки при инъекции, например, прерывание инъекции.

### **Сущность изобретения**

Настоящее изобретение обеспечивает фармацевтическую композицию, включающую около 150 или 200 мг/мл или более антигенсвязывающего белка (например, антитела или его антигенсвязывающего фрагмента), который специфически связывается с С5 (Н2М11683N; Н2М11686N; Н4Н12159Р; Н4Н12161Р; Н4Н12163Р; Н4Н12164Р; Н4Н12166Р; Н4Н12166Р2; Н4Н12166Р3; Н4Н12166Р4; Н4Н12166Р5; Н4Н12166Р6; Н4Н12166Р7; Н4Н12166Р8; Н4Н12166Р9; Н4Н12166Р10; Н4Н12167Р; Н4Н12168Р; Н4Н12169Р; Н4Н12170Р; Н4Н12171Р; Н4Н12175Р; Н4Н12176Р2; Н4Н12177Р2; Н4Н12183Р2; Н2М11682N; Н2М11684N; Н2М11694N; Н2М11695N; равулизумаб; кровалимаб, экулизумаб; тезидолумаб или мубодина); и фармацевтически приемлемый носитель, включающий: буфер (например, фосфатный буфер, ацетатный буфер, цитратный буфер, гистидиновый буфер или имидазольный буфер); аргинин (например, L-аргинин HCl, например, 50-100 мМ, например, 100 мМ); воду; и, необязательно, олигосахарид (например, сахарозу, маннит, декстрозу, глицерин, ТМАО (N-оксид триметиламина), трегалозу, этиленгликоль, глицин-бетаин, ксилит или сорбит, например, 2%); и, необязательно, неионогенный детергент (например, детергент на основе полиоксиэтилена или детергент на основе гликозидного соединения, полисорбат-20, полисорбат-80 или твин-20), рН до около 6,1, например 5-6, например 5,8; и вязкость около 14, 14,3 или 15 сПз (20°C) или менее. В варианте осуществления изобретения анти-С5 антигенсвязывающий белок представляет собой позелимаб. В варианте осуществления изобретения композиция включает около 200 мг/мл антитела, которое специфически связывается с С5 человека (например, позелимаба); около 20 мМ гистидинового буфера; около 100 мМ L-аргинина; около 2% сахарозы; около 0,15% полисорбата-80 и воду, рН 5,8±0,2. В варианте осуществления изобретения фармацевтическая композиция является водной (например, подходящей для внутривенного и/или подкожного введения) и включает Н4Н12166Р (например, около 200 мг/мл), гистидин (например, гистидин-HCl; например, около 20 мМ), рН около 5,8, аргинин (например, около 100 мМ; например, L-

аргинин или гидрохлорид L-аргинина), полиол, такой как сахароза (например, около 2% (масс/об)), и неионогенное поверхностно-активное вещество, такое как полисорбат (например, полисорбат 80; например, около 0,15% (масс/об)). В варианте осуществления изобретения фармацевтическая композиция является водной (например, подходящей для внутривенного и/или подкожного введения) и включает H4H12166P (например, около 200 мг/мл, 200 мг/мл  $\pm$  20 мг/мл или 180-210 мг/мл), гистидин (например, гистидин-HCl; например, около 10-20 или 10-24 мМ), pH около 5,5 $\pm$ 0,6, и аргинин (например, около 100 мМ  $\pm$  20 мМ; например, L-аргинин, L-аргинин HCl или моногидрохлорид L-аргинина), необязательно, полиол, такой как сахароза (например, около 2% (масс/об)), и, необязательно, неионогенное поверхностно-активное вещество, такое как полисорбат (например, полисорбат 80; например, около 0,15% (масс/об)). В варианте осуществления изобретения фармацевтическая композиция является водной (например, подходящей для внутривенного и/или подкожного введения) и включает около 200 мг/мл или 274 мг/мл антитела, которое специфически связывается с C5, где антитело включает тяжелую цепь иммуноглобулина, включающую аминокислотную последовательность: QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGDSVSSSYWTWIRQPPGKGLEWIGYIYYSGSSNYN PSLKSRATISVDTSKNQFSLKLSVTAADTA VYYCAREGNVDTTMIFDYWGQGTLVTVS SASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSQVHTFPAVLQS SGLYSLSSVTVTPSSSLGKTKYTCNV DHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPAPEFLGGPS VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNS TYRVS SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTKAKGQPREPQVYTLPPSQEE MTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSR WQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK (SEQ ID NO: 368); и легкую цепь иммуноглобулина, включающую аминокислотную последовательность:

AIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQGIRNDLGWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQ SGVPSRFAGRGS GTDFTLTISLQPEDFATYYCLQDFNYPWTFGQGTKVEIKRTVAAPSV FIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYS LSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 369), около 20 мМ гистидина (например, гистидин-HCl), pH около 5,8, около 100 мМ L-аргинина (например, L-аргинин HCl или моногидрохлорида L-аргинина), около 2% (масс/об) сахарозы и около 0,15% (масс/об) полисорбата 80 (PS-80). В варианте осуществления изобретения композиция включает одно или более дополнительных терапевтических средств, например, средство на основе РНК-интерференции, которое связывается с последовательностью мРНК, которая частично или полностью кодирует C5, например, включающей цепь РНК, включающую рибонуклеотидную последовательность 5'-UAUUAUAAAAUAUCUUGCUUUU-3' (SEQ ID NO: 358); и цепь РНК, включающую рибонуклеотидную последовательность 5'-AAGCAAGAUUUUUUAUAAUA-3' (SEQ ID NO: 359). В варианте осуществления изобретения дополнительное терапевтическое средство представляет собой цефдисуран. В варианте осуществления изобретения дополнительное терапевтическое средство представляет собой антикоагулянт, варфарин,

аспирин, гепарин, фениндион, фондапаринукс, идрапаринукс, ингибитор тромбина, аргатробан, лепирудин, бивалирудин, дабигатран, противовоспалительное лекарственное средство, кортикостероид, нестероидное противовоспалительное средство (НПВС), антигипертензивное средство, ингибитор ангиотензинпревращающего фермента, иммунодепрессант, винкристин, циклоспорин А или метотрексат, фибринолитическое средство анкрод, Е-аминокапроновую кислоту, антиплазмин-а1, простациклин, дефибротид, гипополидемическое средство, ингибитор гидроксиметилглутарил-КоА-редуктазы, анти-CD20 средство, ритуксимаб, анти-TNFальфа средство, инфликсимаб, противосудорожное средство, сульфат магния, ингибитор C3 и/или антитромботическое средство.

Настоящее изобретение также обеспечивает способ получения фармацевтической композиции по настоящему изобретению, включающий смешивание антигенсвязывающего белка и компонентов носителя. Фармацевтическая композиция, которая является продуктом такого способа, также является частью настоящего изобретения.

Настоящее изобретение также обеспечивает фармацевтическую композицию по настоящему изобретению, включая сосуд или инъекционное устройство, включающее фармацевтическую композицию по настоящему изобретению, например, флакон, шприц, предварительно заполненный шприц или автоинжектор.

Настоящее изобретение также обеспечивает внутривенную композицию (например, стерильную внутривенную композицию), включающую фармацевтическую композицию, включающую анти-C5 антигенсвязывающий белок (например, H2M11683N; H2M11686N; H4H12159P; H4H12161P; H4H12163P; H4H12164P; H4H12166P; H4H12166P2; H4H12166P3; H4H12166P4; H4H12166P5; H4H12166P6; H4H12166P7; H4H12166P8; H4H12166P9; H4H12166P10; H4H12167P; H4H12168P; H4H12169P; H4H12170P; H4H12171P; H4H12175P; H4H12176P2; H4H12177P2; H4H12183P2; H2M11682N; H2M11684N; H2M11694N; H2M11695N; равулизумаб; экулизумаб; кровалимаб, тезидолумаб или мубодина) и водный раствор для внутривенного введения (например, 0,9% физиологический раствор, лактат Рингера, 5% раствор декстрозы в воде или 0,45% физиологический раствор). Например, в варианте осуществления изобретения водный раствор для внутривенного введения имеет объем около 250 мл, 500 мл, 750 мл или 1000 мл. Такая внутривенная композиция может включать любое одно или более из таких веществ, как NaCl, декстроза, калиевая соль, хлорид калия, кальциевая соль, хлорида кальция, лактат натрия и/или лактатная соль. Пластиковый пакет для внутривенного вливания или стеклянная бутылка, содержащие внутривенную композицию, также являются частью настоящего изобретения. Такие внутривенные композиции могут быть составлены таким образом, что при введении субъекту достигается доза около 30 мг/кг массы тела. Способы получения такой внутривенной композиции, включающие стадию введения фармацевтической композиции, которая описана в настоящей заявке, в водном растворе для внутривенного введения, являются частью настоящего изобретения наряду с

внутривенными композициями, которые являются продуктами такого способа.

Настоящее изобретение также обеспечивает способ снижения вязкости водной композиции, которая включает воду и около 150 мг/мл или более (например, около 200 мг/мл) анти-C5 антигенсвязывающего белка (например, около 150 мг/мл, 175 мг/мл, 200 мг/мл, 211 мг/мл, 220 мг/мл, 242 мг/мл или 274 мг/мл, по меньшей мере около 150 мг/мл, по меньшей мере около 175 мг/мл, по меньшей мере около 200 мг/мл, по меньшей мере около 211 мг/мл, по меньшей мере около 220 мг/мл, по меньшей мере около 242 мг/мл или по меньшей мере около 274 мг/мл, например анти-C5 антитела или его антигенсвязывающего фрагмента), включающий объединение воды и антигенсвязывающего белка с аргинином (например, 50 мМ или 100 мМ) и, необязательно, одним или более дополнительными компонентами носителя (например, буфером, неионогенным детергентом и/или олигосахаридом). В варианте осуществления изобретения антигенсвязывающий белок представляет собой H2M11683N; H2M11686N; H4H12159P; H4H12161P; H4H12163P; H4H12164P; H4H12166P; H4H12166P2; H4H12166P3; H4H12166P4; H4H12166P5; H4H12166P6; H4H12166P7; H4H12166P8; H4H12166P9; H4H12166P10; H4H12167P; H4H12168P; H4H12169P; H4H12170P; H4H12171P; H4H12175P; H4H12176P2; H4H12177P2; H4H12183P2; H2M11682N; H2M11684N; H2M11694N; H2M11695N; равулизумаб; экулизумаб; кровалимаб, тезидолумаб или мубодина. В варианте осуществления изобретения вязкость композиции снижается примерно на 30% или около 30-42%, например, при этом вязкость представлена в единицах сПз и измерена при 20°C.

Настоящее изобретение также обеспечивает способ введения фармацевтической композиции по настоящему изобретению субъекту (например, человеку), включающий введение (например, парентерально, например внутривенно, внутримышечно или подкожно) композиции в организм субъекта (например, где субъект имеет C5-ассоциированное заболевание).

Настоящее изобретение также обеспечивает способ лечения или профилактики C5-ассоциированного заболевания (например, атипичного гемолитико-уремического синдрома (aHUS), пароксизмальной ночной гемоглобинурии (PNH) или болезни SHARPLE) у субъекта (например, человека), нуждающегося в этом, включающий введение субъекту терапевтически эффективного количества антигенсвязывающего белка (например, антитела или его антигенсвязывающего фрагмента), который специфически связывается с C5 (например, C5 человека) в фармацевтической композиции по настоящему изобретению. В варианте осуществления изобретения C5-ассоциированное заболевание представляет собой одно или более, выбранных из группы, состоящей из респираторного дистресс-синдрома взрослых; возрастной макулярной дегенерации (AMD); аллергии; синдрома Альпорта; болезни Альцгеймера; антифосфолипидного синдрома (APS); астмы; атеросклероза; атипичного гемолитико-уремического синдрома (aHUS); аутоиммунного заболевания; аутоиммунной гемолитической анемии (АИНА); баллонной ангиопластики; бронхоспазма; буллезного пемфигоида; ожогов; С3 гломерулопатии; синдрома

повышенной проницаемости капилляров; сердечно-сосудистых заболеваний; катастрофического антифосфолипидного синдрома (CAPS); цереброваскулярного заболевания; болезни CHAPLE; химического повреждения; хронической обструктивной болезни легких (COPD); болезни холодовых агглютининов (CAD); ткани роговицы и/или сетчатки; болезни Крона; болезни Дегоса; болезни плотных депозитов (DDD); дерматомиозита; диабета; диабетической ангиопатии; диабетического макулярного отека (DME); диабетической нефропатии; диабетической ретинопатии; дилатационной кардиомиопатии; расстройств несоответствующей или нежелательной активации комплемента; одышки; эмфиземы; буллезного эпидермолиза; эпилепсии; фиброгенной пылевой болезни; обморожения; географической атрофии (GA); гломерулонефрита; гломерулопатии; синдрома Гудпасчера; болезни Грейвса; синдрома Гийена-Барре; тиреоидита Хашимото; осложнений гемодиализа; синдроме гемолиза-повышенного уровня ферментов печени-низкого уровня тромбоцитов (HELLP); гемолитической анемии; гемофтиза; нефрита при пурпуре Шенлейна-Геноха; наследственного ангионевротического отека; сверхострого отторжения аллотрансплантата; гиперчувствительного пневмонита; идиопатической тромбоцитопенической пурпуры (ITP); IgA-нефропатии; расстройства иммунного комплекса; иммунокомплексного васкулита; воспаления, связанного с иммунным комплексом; инфекционного заболевания; воспаления, вызванного аутоиммунным заболеванием; воспалительного заболевания; наследственной недостаточности CD59; повреждений, вызванных инертной пылью и/или минералами; интерлейкин-2-индуцированной токсичности во время IL-2 терапии; ишемически-реперфузионного повреждения; болезни Кавасаки; заболевания или повреждения легких; волчаночного нефрита; мембранопролиферативного гломерулонефрита; мембранопролиферативного нефрита; реперфузии брыжеечной артерии после реконструкции аорты; мезентериального/энтерального сосудистого расстройства; мультифокальной моторной нейропатии (MMN); рассеянного склероза; тяжелой миастении; инфаркта миокарда; миокардита; неврологического расстройства; оптиконевромиелита; ожирения; глазного ангиогенеза; глазной неоваскуляризации, поражающей хориоидею; болезни, вызванной органической пылью; паразитарного заболевания; болезни Паркинсона; пароксизмальной ночной гемоглобинурии (PNH); пауци-иммунного васкулита; пузырьчатки; чрескожной транслуминальной коронарной ангиопластики (PTCA); расстройства периферических сосудов; пневмонии; состояния постишемической реперфузии; постгемодиализного синдрома при сердечно-легочном шунтировании; постгемодиализного синдрома при почечном шунтировании; прогрессирующей почечной недостаточности; пролиферативного нефрита; протеинурического заболевания почек; псориаза; легочной эмболии; легочного фиброза; инфаркта легкого; легочного васкулита; рецидивирующей потери плода; заболевания почек; почечной ишемии; почечного ишемически-реперфузионного повреждения; реноваскулярного расстройства; рестеноза после установки стента; ревматоидного артрита; ротационной атерэктомии; шизофрении; сепсиса; септического шока;

волчаночного нефрита; поражения дымом; повреждения спинного мозга; спонтанной потери плода; инсульта; системной воспалительной реакции на сепсис; системной красной волчанки (SLE); васкулита, ассоциированного с системной красной волчанкой; болезни Такаясу; термической травмы; тромботической тромбоцитопенической пурпуры (ТТП); черепно-мозговой травмы; диабета I типа; типичного гемолитико-уремического синдрома; увеита; васкулита; васкулита, ассоциированного с ревматоидным артритом; венозной газовой эмболии (VGE); и отторжения ксенотрансплантата.

Настоящее изобретение также обеспечивает способ снижения активности комплемента в организме субъекта (например, человека), нуждающегося в этом, включающий введение субъекту терапевтически эффективного количества анти-C5 антигенсвязывающего белка (например, антитела или его антигенсвязывающего фрагмента) в фармацевтической композиции по настоящему изобретению.

### **Краткое описание чертежей**

**Фиг. 1.** Термограмма DSC 1 мг/мл H4H12166P, определенная при помощи VP-DSC. Показанная на вставке  $T_m2$  представляет собой небольшой перегиб, наблюдаемый в начале большей эндотермы. Это не четко определенная эндотерма, и поэтому для этого профиля в Таблице 1-3 указаны только два значения  $T_{ms}$ , представленные двумя основными эндотермами.

**Фиг. 2.** Термограмма DSC 150 мг/мл H4H12166P, определенная при помощи TA-DSC.

**Фиг. 3.** Термограмма DSC 200 мг/мл сформулированного H4H12166P, определенная при помощи TA-DSC.

**Фиг. 4А-4В.** Фиг. 4А представляет графики, показывающие влияние pH, температуры и свободного пространства контейнера на различные характеристики качества ( $\Delta$  % высокомолекулярных (HMW) видов;  $\Delta$  % нативных видов;  $\Delta$  % низкомолекулярных (LMW) видов;  $\Delta$  % кислотных видов;  $\Delta$  % главных видов;  $\Delta$  % основных видов;  $\Delta$  концентрации белка;  $\Delta$  pH; и  $\Delta$  оптической плотности). Фиг. 4В представляет графики, показывающие влияние pH, температуры и свободного пространства контейнера на концентрации белка 150 мг/мл H4H12166P.

**Фиг. 5А, 5В, 5С.** Фиг. 5А представляет график, показывающий скорость образования вариантов молекулярного размера (HMW видов) в 150 мг/мл H4H12166P, 20 mM гистидина, pH 5,8 при различных температурах; Фиг. 5В представляет график, показывающий скорость образования вариантов молекулярного размера (главных мономерных видов) в 150 мг/мл H4H12166P, 20 mM гистидина, pH 5,8 при различных температурах; и Фиг. 5С представляет график, показывающий скорость образования вариантов молекулярного размера (LMW видов) в 150 мг/мл H4H12166P, 20 mM гистидина, pH 5,8 при различных температурах. Переходные функции из исследования DoE (результаты эксклюзионной СВЭЖХ, показанные на Фиг. 4) использовали для оценки скоростей в зависимости от температуры инкубации.

**Фиг. 6А, 6В, 6С.** Фиг. 6А представляет график, показывающий скорость

образования заряженных вариантов (кислотных видов) в 150 мг/мл Н4Н12166Р, 20 мМ гистидина, рН 5,8 при различных температурах; Фиг. 6В представляет график, показывающий скорость образования заряженных вариантов (главный пик) в 150 мг/мл Н4Н12166Р, 20 мМ гистидина, рН 5,8 при различных температурах; Фиг. 6С представляет график, показывающий скорость образования заряженных вариантов (основных видов) в 150 мг/мл Н4Н12166Р, 20 мМ гистидина, рН 5,8 при различных температурах. Переходные функции из исследования DoE (результаты катионообменной СВЭЖХ, показанные на Фиг. 4) использовали для оценки скоростей в зависимости от температуры инкубации.

**Фиг. 7.** Высокомолекулярные (НМВ) виды, образованные в 150 мг/мл Н4Н12166Р после стрессовых испытаний перемешивания и заморозки/оттаивания (F/T).

**Фиг. 8.** Виды вариантов с кислотным зарядом в 150 мг/мл Н4Н12166Р после стрессовых испытаний перемешивания и заморозки/оттаивания (F/T).

**Фиг. 9.** Относительный % площадей пиков окисленных видов в 150 мг/мл Н4Н12166Р, определенный методом ГИХ-ВЭЖХ, после инкубации с 500 млн.д. Н<sub>2</sub>O<sub>2</sub> при 37°C в течение до 24 часов.

**Фиг. 10.** Общий % уровней окисления в 150 мг/мл Н4Н12166Р, определенный методом ГИХ-ВЭЖХ, после принудительного окисления с различными концентрациями пероксида водорода при 37°C в течение до 24 часов.

**Фиг. 11.** Варианты с кислотным зарядом в 150 мг/мл Н4Н12166Р, определенные катионообменной СВЭЖХ, после инкубации с различными концентрациями пероксида водорода при 37°C в течение до 24 часов.

**Фиг. 12.** Варианты с основным зарядом в 150 мг/мл Н4Н12166Р, определенные катионообменной СВЭЖХ, после инкубации с различными концентрациями пероксида водорода при 37°C в течение до 24 часов.

**Фиг. 13.** Высокомолекулярные (НМВ) виды в 150 мг/мл Н4Н12166Р, определенные эксклюзионной СВЭЖХ, после инкубации с различными концентрациями пероксида водорода при 37°C в течение до 24 часов.

**Фиг. 14.** Иллюстративные композиции по настоящему изобретению.

#### **Подробное описание**

Фармацевтические композиции по настоящему изобретению характеризуются рядом особенно выгодных свойств. Композиции имеют как высокую концентрацию белка, так и низкую вязкость. Особенно низкая вязкость композиции контрастирует с вязкостью некоторых коммерчески доступных продуктов анти-С5 антител. Низкая вязкость композиций по настоящему изобретению облегчает доставку большого количества анти-С5 антитела в малом объеме. Более того, фармацевтические композиции по настоящему изобретению демонстрируют высокую степень стабильности - сопротивление значимому увеличению высокомолекулярных (НМВ) видов при сильно окислительных условиях и лишь минимальное увеличение НМВ видов после нескольких часов перемешивания.

Термин “высокомолекулярный” (НМВ) вид в контексте настоящей заявки,

например, в отношении фармацевтической композиции, содержащей данное анти-С5 антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, относится к любому виду антитела или его антигенсвязывающего фрагмента в композиции, который элюируется из эксклюзионной колонки (например, эксклюзионной СВЭЖХ) раньше (например, с более высокой молекулярной массой, чем у) отдельного вида такого антитела (тетрамерного комплекса с двумя тяжелыми и двумя легкими цепями) или его антигенсвязывающего фрагмента. Процентное содержание HMW видов относится к процентному содержанию таких видов по отношению к общему количеству антитела или его антигенсвязывающего фрагмента в композиции, например, по данным анализа эксклюзионной СВЭЖХ.

Термин "низкомолекулярный" (LMW) вид в контексте настоящей заявки, например, в отношении фармацевтической композиции, содержащей данное анти-С5 антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, относится к любому виду антитела или его антигенсвязывающего фрагмента в композиции, который элюируется из эксклюзионной колонки (например, эксклюзионной СВЭЖХ) после (например, с более низкой молекулярной массой, чем у) отдельного вида такого антитела (тетрамерного комплекса с двумя тяжелыми и двумя легкими цепями) или его антигенсвязывающего фрагмента. Процентное содержание LMW видов относится к процентному содержанию таких видов по отношению к общему количеству антитела или его антигенсвязывающего фрагмента в композиции, например, по данным анализа эксклюзионной СВЭЖХ.

Концентрации эксципиентов в композициях по настоящему изобретению могут быть выражены в процентах (%), которые представляют собой единицы массы/объема (масс/об). Масса/объем относится к массе компонента/объему раствора X 100.

Термин "С5", также называемый "компонент комплемента 5" или "фактор комплемента 5" относится к сывороточному белку каскада комплемента. Белок С5 представляет собой белок из 1676 аминокислот, включающий две цепи, альфа и бета. Белок представляет собой точку схождения для трех путей активации комплемента: классического пути, альтернативного пути и маннозосвязывающего лектинового пути. Примером аминокислотной последовательности полноразмерного белка С5 является аминокислотная последовательность, представленная в GenBank под номером доступа NP001726.2.

В соответствии с настоящим изобретением могут быть использованы традиционные методы молекулярной биологии, микробиологии и рекомбинантной ДНК, известные специалистам в данной области. Такие методы полностью описаны в литературе. См., например, Sambrook, Fritsch & Maniatis, *Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Second Edition* (1989) Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y. (herein "Sambrook, et al., 1989"); *DNA Cloning: A Practical Approach, Volumes I and II* (D. N. Glover ed. 1985); *Oligonucleotide Synthesis* (M. J. Gait ed. 1984); *Nucleic Acid Hybridization* (B. D. Hames & S. J. Higgins eds. (1985)); *Transcription And Translation* (B. D. Hames & S. J. Higgins, eds. (1984)); *Animal Cell Culture* (R. I. Freshney, ed. (1986)); *Immobilized Cells And Enzymes* (IRL Press, (1986)); B. Perbal, *A Practical Guide To Molecular Cloning* (1984); F. M.

Ausubel, et al. (eds.), Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons, Inc. (1994).

### **Анти-С5 антигенсвязывающие белки**

Настоящее изобретение обеспечивает фармацевтические композиции, включающие анти-С5 антигенсвязывающие белки (например, антитела и их антигенсвязывающие фрагменты) и фармацевтически приемлемый носитель.

В варианте осуществления изобретения анти-С5 антигенсвязывающий белок связывается с бета-цепью или альфа-цепью С5 или с обеими, например, по остаткам 591-599 и/или 775-794, например, NMATGMDSW (SEQ ID NO: 353) и/или WEVHLVPRRKQLQFALPDSL (SEQ ID NO: 354). В варианте осуществления изобретения анти-С5 антигенсвязывающий белок не связывает С5а.

В варианте осуществления изобретения анти-С5 антигенсвязывающий белок связывает С5 по остаткам KDMQLGRLHMKTLTPVSK (SEQ ID NO: 355).

В варианте осуществления изобретения анти-С5 антигенсвязывающий белок связывает бета цепь его С5, например, по остаткам 332-398, 332-378, 332-364, 332-348, 350-420, 369-409, 379-398 и/или 386-392.

В варианте осуществления изобретения анти-С5 антигенсвязывающий белок связывает С5а, например, по остаткам NDETCEQRA (SEQ ID NO: 356) и/или SHKDMQL (SEQ ID NO: 357).

В варианте осуществления изобретения анти-С5 антигенсвязывающий белок связывает бета цепь С5, например остатки 19-180. В варианте осуществления изобретения связывание с С5 снижается за счет мутаций С5 Е48А, D51А и/или К109А.

Полипептиды иммуноглобулинов в анти-С5 антигенсвязывающих белках (например, антитело или его антигенсвязывающий фрагмент) фармацевтических композиций по настоящему изобретению представлены в Таблице А. См. публикацию международной патентной заявки WO2017/218515.

**Таблица А**

**Аминокислотные последовательности цепей анти-С5 антитела\***

Обозначение антитела	SEQ ID NO							
	HCVR	HCDR 1	HCDR 2	HCDR 3	LCVR	LCDR 1	LCDR 2	LCDR 3
H2M11683N	2	4	6	8	10	12	14	16
H2M11686N	18	20	22	24	26	28	30	32
H4H12159P	34	36	38	40	42	44	46	48
H4H12161P	50	52	54	56	58	60	62	64
H4H12163P	66	68	70	72	74	76	78	80
H4H12164P	82	84	86	88	90	92	94	96
H4H12166P	98	100	102	104	106	108	110	112
H4H12166P2	98	100	102	104	114	116	118	120
H4H12166P3	122	124	126	128	106	108	110	112
H4H12166P4	98	100	102	104	130	132	134	136
H4H12166P5	138	140	142	144	106	108	110	112
H4H12166P6	146	148	150	152	106	108	110	112
H4H12166P7	122	124	126	128	130	132	134	136

H4H12166P8	146	148	150	152	114	116	118	120
H4H12166P9	146	148	150	152	130	132	134	136
H4H12166P10	138	140	142	144	130	132	134	136
H4H12167P	154	156	158	160	162	164	166	168
H4H12168P	170	172	174	176	178	180	182	184
H4H12169P	186	188	190	192	194	196	198	200
H4H12170P	202	204	206	208	210	212	214	216
H4H12171P	218	220	222	224	226	228	230	232
H4H12175P	234	236	238	240	242	244	246	248
H4H12176P2	250	252	254	256	258	260	262	264
H4H12177P2	266	268	270	272	258	260	262	264
H4H12183P2	274	276	278	280	282	284	286	288
H2M11682N	290	292	294	296	298	300	302	304
H2M11684N	306	308	310	312	314	316	318	320
H2M11694N	322	324	326	328	330	332	334	336
H2M11695N	338	340	342	344	346	348	350	352

\*Антитела и фрагменты могут включать один или более вариантов указанных последовательностей

Таблица В

## Нуклеотидные последовательности цепей анти-С5 антитела\*

Обозначение антитела	SEQ ID NO							
	HCVR	HCDR 1	HCDR 2	HCDR 3	LCVR	LCDR 1	LCDR 2	LCDR 3
H2M11683N	1	3	5	7	9	11	13	15
H2M11686N	17	19	21	23	25	27	29	31
H4H12159P	33	35	37	39	41	43	45	47
H4H12161P	49	51	53	55	57	59	61	63
H4H12163P	65	67	69	71	73	75	77	79
H4H12164P	81	83	85	87	89	91	93	95
H4H12166P	97	99	101	103	105	107	109	111
H4H12166P2	97	99	101	103	113	115	117	119
H4H12166P3	121	123	125	127	105	107	109	111
H4H12166P4	97	99	101	103	129	131	133	135
H4H12166P5	137	139	141	143	105	107	109	111
H4H12166P6	145	147	149	151	105	107	109	111
H4H12166P7	121	123	125	127	129	131	133	135
H4H12166P8	145	147	149	151	113	115	117	119
H4H12166P9	145	147	149	151	129	131	133	135
H4H12166P10	137	139	141	143	129	131	133	135

H4H12167P	153	155	157	159	161	163	165	167
H4H12168P	169	171	173	175	177	179	181	183
H4H12169P	185	187	189	191	193	195	197	199
H4H12170P	201	203	205	207	209	211	213	215
H4H12171P	217	219	221	223	225	227	229	231
H4H12175P	233	235	237	239	241	243	245	247
H4H12176P2	249	251	253	255	257	259	261	263
H4H12177P2	265	267	269	271	257	259	261	263
H4H12183P2	273	275	277	279	281	283	285	287
H2M11682N	289	291	293	295	297	299	301	303
H2M11684N	305	307	309	311	313	315	317	319
H2M11694N	321	323	325	327	329	331	333	335
H2M11695N	337	339	341	343	345	347	349	351

\*Антитела и фрагменты могут включать один или более вариантов указанных последовательностей

В варианте осуществления изобретения анти-C5 антигенсвязывающий белок представляет собой экулизумаб (продается под названием Soliris), кровалимаб, равулизумаб (ALXN1210; продается под названием Ultomiris), тезидолумаб (см. US8241628; WO 2010/015608; или WO2017/212375) или мубодина (см. US7999081). В варианте осуществления изобретения анти-C5 антигенсвязывающий белок представляет собой антитело позелимаб (REGN3918; H4H12166P). Антитело позелимаб (REGN3918; H4H12166P) включает тяжелую цепь иммуноглобулина, включающую аминокислотную последовательность:

QVQLQESGPG LVKPSSETLSL TCTVSGDSVS SSYWTWIRQP PGKGLEWIGY  
IYYSGSSNYN PSLKSRATIS VDTSKNQFSL KLSSVTAADT AVYYCAREGN  
VDTTMIFDYW GQGTLVTVSS ASTKGPSVFP LAPCSRSTSE STAALGCLVK  
DYFPEPVTVS WNSGALTSGV HTFPAVLQSS GLYSLSSVVT VPSSSLGTKT  
YTCNVDHKPS NTKVDKRVES KYGPPCPPCP APEFLGGPSV FLFPPKPKDT  
LMISRTPEVT CVVVDVSDQED PEVQFNWYVD GVEVHNAKTK PREEQFNSTY  
RVVSVLTVLH QDWLNGKEYK CKVSNKGLPS SIEKTISKAK GQPREPQVYT  
LPPSQEEMTK NQVSLTCLVK GFYPSDIAVE WESNGQPENN YKTTTPVLDS  
DGSFFLYSRL TVDKSRWQEG NVFSCSVMHE ALHNHYTQKS LSLSLGK (SEQ ID NO:  
368);

и легкую цепь иммуноглобулина, включающую аминокислотную последовательность:

AIQMTQSPSS LSASVGDRVIT ITCRASQGIR NDLGWYQQKP GKAPKLLIYA  
ASSLQSGVPS RFAGRGSQTD FTLTISSLQP EDFATYYCLQ DFNYPWTFGQ

GTKVEIKRTV AAPSVFIFPP SDEQLKSGTA SVVCLLNNFY PREAKVQWKV  
 DNALQSGNSQ ESVTEQDSKD STYLSSTLT LSKADYEKHK VYACEVTHQG  
 LSSPVTKSFN RGEC (SEQ ID NO: 369). См. WO2017/218515.

В варианте осуществления изобретения анти-C5 антигенсвязывающий белок включает тяжелую цепь иммуноглобулина, включающую аминокислотную последовательность:

QVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTVHSSYYMAWVRQAPGKGLEWVGAIF  
 TGSGAEY

KAEWAKGRVTISKDTSKNQVVLTMTNMDPVDATYYCASDAGYDYPHTAMHY  
 WGQGT LVT

VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHT  
 FPAVL

QSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPC  
 PAPEL

RRGPKVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK  
 TKPREE

QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQV  
 YTLPPS

REEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYS  
 KLTVDK

SRWQQGNVFSCSVLHEALHAHYTRKELSLSP

(SEQ ID NO: 370) или ее HCDR1, HCDR2 и HCDR3; или ее V<sub>H</sub> (или ее вариант);

и легкую цепь иммуноглобулина, включающую аминокислотную последовательность:

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISSSLAWYQQKPGKAPKLLIYGASETES  
 GVPS

RFGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQNTKVGSSYGNTFGGGTKVEIKRTVAA  
 PSVFI

FPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDS  
 TYSLSS

TLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

(SEQ ID NO: 371) или ее LCDR1, LCDR2 и LCDR3; или ее V<sub>L</sub> (или ее вариант).

Настоящее изобретение включает фармацевтические композиции, включающие антитела и их антигенсвязывающие фрагменты, которые включают переменные области и CDR, которые конкретно обсуждаются в настоящей заявке, а также переменные области и CDR, которые являются вариантами обсуждаемых в настоящей заявке.

"Вариант" полипептида, такого как цепь иммуноглобулина (например, V<sub>H</sub>, V<sub>L</sub>, HC или LC, или их CDR, H2M11683N; H2M11686N; H4H12159P; H4H12161P; H4H12163P; H4H12164P; H4H12166P; H4H12166P2; H4H12166P3; H4H12166P4; H4H12166P5; H4H12166P6; H4H12166P7; H4H12166P8; H4H12166P9; H4H12166P10; H4H12167P;

H4H12168P; H4H12169P; H4H12170P; H4H12171P; H4H12175P; H4H12176P2;  
 H4H12177P2; H4H12183P2; H2M11682N; H2M11684N; H2M11694N; H2M11695N;  
 равулизумаба, экулизумаба, кровалимаба, тезидолумаба или мубодина, включающая  
 аминокислотную последовательность, конкретно указанную в настоящей заявке),  
 относится к полипептиду, включающему аминокислотную последовательность, которая  
 по меньшей мере примерно на 70-99,9% (например, по меньшей мере на 70, 72, 74, 75, 76,  
 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 99,5 или 99,9%)  
 идентична или подобна ссылочной аминокислотной последовательности, приведенной в  
 настоящей заявке (например, любой из SEQ ID NO: 2; 4; 6; 8; 10; 12; 14; 16; 18; 20; 22; 24;  
 26; 28; 30; 32; 34; 36; 38; 40; 42; 44; 46; 48; 50; 52; 54; 56; 58; 60; 62; 64; 66; 68; 70; 72; 74;  
 76; 78; 80; 82; 84; 86; 88; 90; 92; 94; 96; 98; 98; 98; 100; 100; 100; 102; 102; 102; 104; 104;  
 104; 106; 106; 106; 106; 108; 108; 108; 108; 110; 110; 110; 110; 112; 112; 112; 112; 114; 114;  
 116; 116; 118; 118; 120; 120; 122; 122; 124; 124; 126; 126; 128; 128; 130; 130; 130; 130; 132;  
 132; 132; 132; 134; 134; 134; 134; 136; 136; 136; 136; 138; 138; 140; 140; 142; 142; 144; 144;  
 146; 146; 146; 148; 148; 148; 150; 150; 150; 152; 152; 152; 154; 156; 158; 160; 162; 164; 166;  
 168; 170; 172; 174; 176; 178; 180; 182; 184; 186; 188; 190; 192; 194; 196; 198; 200; 202; 204;  
 206; 208; 210; 212; 214; 216; 218; 220; 222; 224; 226; 228; 230; 232; 234; 236; 238; 240; 242;  
 244; 246; 248; 250; 252; 254; 256; 258; 258; 260; 260; 262; 262; 264; 264; 266; 268; 270; 272;  
 274; 276; 278; 280; 282; 284; 286; 288; 290; 292; 294; 296; 298; 300; 302; 304; 306; 308; 310;  
 312; 314; 316; 318; 320; 322; 324; 326; 328; 330; 332; 334; 336; 338; 340; 342; 344; 346; 348;  
 350, 352, 353, 354, 355, 356, 357, 362, 363, 364, 365, 366, 367, 368 и/или 369), см., например,  
 Таблицу А; когда сравнение выполняют при помощи алгоритма BLAST, где параметры  
 алгоритма выбирают таким образом, чтобы обеспечить максимальное совпадение между  
 соответствующими последовательностями по всей длине соответствующих эталонных  
 последовательностей (например, ожидаемый порог: 10; размер слова: 3; максимальное  
 совпадение в диапазоне запроса: 0; матрица BLOSUM 62; стоимость гэпа: наличие 11,  
 удлинение 1; условная композиционная корректировка матрицы замен).

Более того, вариант полипептида может включать полипептид, такой как цепь  
 иммуноглобулина (например, V<sub>H</sub>, V<sub>L</sub>, HC или LC, или их CDR, H2M11683N; H2M11686N;  
 H4H12159P; H4H12161P; H4H12163P; H4H12164P; H4H12166P; H4H12166P2;  
 H4H12166P3; H4H12166P4; H4H12166P5; H4H12166P6; H4H12166P7; H4H12166P8;  
 H4H12166P9; H4H12166P10; H4H12167P; H4H12168P; H4H12169P; H4H12170P;  
 H4H12171P; H4H12175P; H4H12176P2; H4H12177P2; H4H12183P2; H2M11682N;  
 H2M11684N; H2M11694N; H2M11695N; равулизумаба, экулизумаба, кровалимаба,  
 тезидолумаба или мубодина), может включать аминокислотную последовательность  
 эталонного полипептида, аминокислотная последовательность которого конкретно  
 указана в настоящей заявке, за исключением одной или более (например, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7,  
 8, 9 или 10) мутаций, например, одной или более миссенс-мутаций (например,  
 консервативных замен), бессмысловых мутаций, делеций или вставок. Например,  
 настоящее изобретение включает фармацевтические композиции, включающие один или

более анти-С5 антигенсвязывающих белков, которые включают вариант легкой цепи (или V<sub>L</sub>) иммуноглобулина, включающий аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 106, но имеющий одну или более из таких мутаций, и/или вариант тяжелой цепи (или V<sub>H</sub>) иммуноглобулина, включающий аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 98, но имеющий одну или более из таких мутаций. В варианте осуществления изобретения анти-С5 антигенсвязывающий белок включает вариант легкой цепи иммуноглобулина, включающий CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, где одна или более (например, 1 или 2 или 3) из таких CDR имеет одну или более из таких мутаций (например, консервативных замен), и/или вариант тяжелой цепи иммуноглобулина, включающий CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, где одна или более (например, 1 или 2 или 3) из таких CDR имеет одну или более из таких мутаций (например, консервативных замен).

Следующие ссылки относятся к алгоритмам BLAST, часто используемым для анализа последовательностей: BLAST ALGORITHMS: Altschul et al. (2005) FEBS J. 272(20): 5101-5109; Altschul, S. F., et al., (1990) J. Mol. Biol. 215:403-410; Gish, W., et al., (1993) Nature Genet. 3:266-272; Madden, T. L., et al., (1996) Meth. Enzymol. 266:131-141; Altschul, S. F., et al., (1997) Nucleic Acids Res. 25:3389-3402; Zhang, J., et al., (1997) Genome Res. 7:649-656; Wootton, J. C., et al., (1993) Comput. Chem. 17:149-163; Hancock, J. M. et al., (1994) Comput. Appl. Biosci. 10:67-70; ALIGNMENT SCORING SYSTEMS: Dayhoff, M. O., et al., "A model of evolutionary change in proteins." in Atlas of Protein Sequence and Structure, (1978) vol. 5, suppl. 3. M. O. Dayhoff (ed.), pp. 345-352, Natl. Biomed. Res. Found., Washington, D.C.; Schwartz, R. M., et al., "Matrices for detecting distant relationships." in Atlas of Protein Sequence and Structure, (1978) vol. 5, suppl. 3." M. O. Dayhoff (ed.), pp. 353-358, Natl. Biomed. Res. Found., Washington, D.C.; Altschul, S. F., (1991) J. Mol. Biol. 219:555-565; States, D. J., et al., (1991) Methods 3:66-70; Henikoff, S., et al., (1992) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89:10915-10919; Altschul, S. F., et al., (1993) J. Mol. Evol. 36:290-300; ALIGNMENT STATISTICS: Karlin, S., et al., (1990) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 87:2264-2268; Karlin, S., et al., (1993) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:5873-5877; Dembo, A., et al., (1994) Ann. Prob. 22:2022-2039; и Altschul, S. F. "Evaluating the statistical significance of multiple distinct local alignments." in Theoretical and Computational Methods in Genome Research (S. Suhai, ed.), (1997) pp. 1-14, Plenum, N.Y.

“H2M11683N”; “H2M11686N”; “H4H12159P”; “H4H12161P”; “H4H12163P”; “H4H12164P”; “H4H12166P”; “H4H12166P2”; “H4H12166P3”; “H4H12166P4”; “H4H12166P5”; “H4H12166P6”; “H4H12166P7”; “H4H12166P8”; “H4H12166P9”; “H4H12166P10”; “H4H12167P”; “H4H12168P”; “H4H12169P”; “H4H12170P”; “H4H12171P”; “H4H12175P”; “H4H12176P2”; “H4H12177P2”; “H4H12183P2”; “H2M11682N”; “H2M11684N”; “H2M11694N” или “H2M11695N”, если не указано иное, относятся к анти-С5 антигенсвязывающим белкам, например, антителам и их антигенсвязывающим фрагментам (включая мультиспецифические антигенсвязывающие белки), которые специфически связываются с С5, включающим тяжелую цепь иммуноглобулина или ее

вариабельную область ( $V_H$ ), включающую аминокислотную последовательность, конкретно указанную в настоящей заявке, относящуюся, в Таблице А настоящей заявки или Таблице 1 WO2017/218515 (и последовательности, указанные в этой публикации), к H2M11683N; H2M11686N; H4H12159P; H4H12161P; H4H12163P; H4H12164P; H4H12166P; H4H12166P2; H4H12166P3; H4H12166P4; H4H12166P5; H4H12166P6; H4H12166P7; H4H12166P8; H4H12166P9; H4H12166P10; H4H12167P; H4H12168P; H4H12169P; H4H12170P; H4H12171P; H4H12175P; H4H12176P2; H4H12177P2; H4H12183P2; H2M11682N; H2M11684N; H2M11694N; или H2M11695N (например, SEQ ID NO: 2; 18; 34; 50; 66; 82; 98; 98; 122; 98; 138; 146; 122; 146; 146; 138; 154; 170; 186; 202; 218; 234; 250; 266; 274; 290; 306; 322 или 338) (или ее вариант), и/или легкую цепь иммуноглобулина или ее вариабельную область ( $V_L$ ), включающую аминокислотную последовательность, конкретно указанную в настоящей заявке, относящуюся, в Таблице А настоящей заявки или Таблице 1 WO2017/218515 (и последовательности, указанные в этой публикации), к H2M11683N; H2M11686N; H4H12159P; H4H12161P; H4H12163P; H4H12164P; H4H12166P; H4H12166P2; H4H12166P3; H4H12166P4; H4H12166P5; H4H12166P6; H4H12166P7; H4H12166P8; H4H12166P9; H4H12166P10; H4H12167P; H4H12168P; H4H12169P; H4H12170P; H4H12171P; H4H12175P; H4H12176P2; H4H12177P2; H4H12183P2; H2M11682N; H2M11684N; H2M11694N или H2M11695N (например, SEQ ID NO: 10; 26; 42; 58; 74; 90; 106; 114; 106; 130; 106; 106; 130; 114; 130; 130; 162; 178; 194; 210; 226; 242; 258; 258; 282; 298; 314; 330 или 346) (или ее вариант), соответственно; и/или которые включают тяжелую цепь или  $V_H$ , которая включает ее CDR (CDR-H1 (или ее вариант), CDR-H2 (или ее вариант) и CDR-H3 (или ее вариант)), и/или легкую цепь или  $V_L$ , которая включает ее CDR (CDR-L1 (или ее вариант), CDR-L2 (или ее вариант) и CDR-L3 (или ее вариант)). В варианте осуществления изобретения  $V_H$  связана с константным доменом тяжелой цепи IgG (например, IgG1 или IgG4 (например, IgG4 (S228P мутант))), и/или  $V_L$  связана с константным доменом легкой цепи лямбда или каппа.

В варианте осуществления изобретения антигенсвязывающий белок, H2M11683N, включает HCVR, которая включает аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 2, и LCVR, которая включает аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 10 (например, где антигенсвязывающий белок представляет собой антитело или его антигенсвязывающий фрагмент).

В варианте осуществления изобретения антигенсвязывающий белок, H2M11686N, включает HCVR, которая включает аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 18, и LCVR, которая включает аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 26 (например, где антигенсвязывающий белок представляет собой антитело или его антигенсвязывающий фрагмент).

В варианте осуществления изобретения антигенсвязывающий белок, H4H12159P,









фрагмент).

В варианте осуществления изобретения анти-C5 антигенсвязывающий белок, например, антитело или антигенсвязывающий фрагмент, включает константный домен тяжелой цепи, например, типа IgA (например, IgA1 или IgA2), IgD, IgE, IgG (например, IgG1, IgG2, IgG3 и IgG4 (например, включающий S228P мутацию)) или IgM. Silva et al., J Biol Chem. 290(9):5462-9 (2015). В варианте осуществления изобретения антигенсвязывающий белок, например, антитело или антигенсвязывающий фрагмент, включает константный домен легкой цепи, например, типа каппа или лямбда. Настоящее изобретение включает фармацевтические композиции, включающие антигенсвязывающие белки, включающие переменные домены, указанные в настоящей заявке и в данной области техники (например, H2M11683N; H2M11686N; H4H12159P; H4H12161P; H4H12163P; H4H12164P; H4H12166P; H4H12166P2; H4H12166P3; H4H12166P4; H4H12166P5; H4H12166P6; H4H12166P7; H4H12166P8; H4H12166P9; H4H12166P10; H4H12167P; H4H12168P; H4H12169P; H4H12170P; H4H12171P; H4H12175P; H4H12176P2; H4H12177P2; H4H12183P2; H2M11682N; H2M11684N; H2M11694N; H2M11695N; равулизумаб, экулизумаб, кровалимаб, тезидолумаб, мубодина, IFX-1 (см. например, US2017/0137499), олендализумаб), которые связаны с константным доменом тяжелой и/или легкой цепи, например, как указано выше (например, константной областью тяжелой цепи IgG4 и константной областью легкой каппа-цепи).

Термин "антитело" в контексте настоящей заявки относится к молекулам иммуноглобулина, включающим четыре полипептидные цепи, две тяжелые цепи (HC), включающие три H-CDR, и две легкие цепи (LC), включающие три L-CDR, соединенные между собой дисульфидными связями (т.е. "молекулы полноразмерного антитела") (например, IgG4), например, H2M11683N; H2M11686N; H4H12159P; H4H12161P; H4H12163P; H4H12164P; H4H12166P; H4H12166P2; H4H12166P3; H4H12166P4; H4H12166P5; H4H12166P6; H4H12166P7; H4H12166P8; H4H12166P9; H4H12166P10; H4H12167P; H4H12168P; H4H12169P; H4H12170P; H4H12171P; H4H12175P; H4H12176P2; H4H12177P2; H4H12183P2; H2M11682N; H2M11684N; H2M11694N; или H2M11695N. В варианте осуществления изобретения назначение аминокислот каждому CDR домену в цепи иммуноглобулина соответствует определениям Sequences of Proteins of Immunological Interest, Kabat, et al.; National Institutes of Health, Bethesda, Md.; 5th ed.; NIH Publ. No. 91-3242 (1991); Kabat (1978) Adv. Prot. Chem. 32:1-75; Kabat, et al., (1977) J. Biol. Chem. 252:6609-6616; Chothia, et al., (1987) J Mol. Biol. 196:901-917 or Chothia, et al., (1989) Nature 342:878-883. Таким образом, настоящее изобретение включает антитела и антигенсвязывающие фрагменты, включающие CDR V<sub>H</sub> и CDR V<sub>L</sub>, при этом V<sub>H</sub> и V<sub>L</sub> включают аминокислотные последовательности, представленные в настоящей заявке (или их вариант), где CDR являются такими, как определено в соответствии с Kabat и/или Chotia.

Термины "антигенсвязывающая часть" или "антигенсвязывающий фрагмент" антитела или антигенсвязывающего белка и т.п. в контексте настоящей заявки включают

любой природный, получаемый ферментативным путем, синтетический или полученный методами генной инженерии полипептид или гликопротеин, который специфически связывается с антигеном с образованием комплекса. Неограничивающие примеры антигенсвязывающих фрагментов включают: (i) Fab фрагменты; (ii) F(ab')<sub>2</sub> фрагменты; (iii) Fd фрагменты (часть тяжелой цепи Fab фрагмента, расщепленного папаином); (iv) Fv фрагменты (V<sub>H</sub> или V<sub>L</sub>); и (v) одноцепочечные Fv (scFv) молекулы, состоящие из аминокислотных остатков, которые имитируют гипервариабельную область антитела (например, выделенная определяющая комплементарность область (CDR), такая как CDR3 пептид), или FR3-CDR3-FR4 пептид с ограниченной конформационной свободой. Другие сконструированные молекулы, такие как домен-специфические антитела, однодоменные антитела, домен-делетированные антитела, химерные антитела, CDR-привитые антитела, диатела, триатела, тетратела, миниантитела и небольшие модульные иммунофармацевтические препараты (SMIP), также охватываются выражением "антигенсвязывающий фрагмент", как это используется в настоящей заявке. В варианте осуществления изобретения антигенсвязывающий фрагмент включает три или более CDR из H2M11683N; H2M11686N; H4H12159P; H4H12161P; H4H12163P; H4H12164P; H4H12166P; H4H12166P2; H4H12166P3; H4H12166P4; H4H12166P5; H4H12166P6; H4H12166P7; H4H12166P8; H4H12166P9; H4H12166P10; H4H12167P; H4H12168P; H4H12169P; H4H12170P; H4H12171P; H4H12175P; H4H12176P2; H4H12177P2; H4H12183P2; H2M11682N; H2M11684N; H2M11694N; или H2M11695N (например, CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3; и/или CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3).

Термин "рекомбинантные" антигенсвязывающие белки, такие как антитела или их антигенсвязывающие фрагменты, относится к таким молекулам, созданным, экспрессированным, выделенным или полученным с использованием технологий или способов, известных в данной области техники как технология рекомбинантной ДНК, которые включают, например, сплайсинг ДНК и трансгенную экспрессию. Термин включает антитела, экспрессированные отличным от человека млекопитающим (включая трансгенных не относящихся к человеку млекопитающих, например, трансгенных мышей), или в клетке-хозяине (например, в клетке яичника китайского хомячка (CHO)) или в клеточной системе экспрессии, или выделенные из рекомбинантной комбинаторной библиотеки человеческих антител. Настоящее изобретение включает рекомбинантные антигенсвязывающие белки, представленные в настоящей заявке (например, H2M11683N; H2M11686N; H4H12159P; H4H12161P; H4H12163P; H4H12164P; H4H12166P; H4H12166P2; H4H12166P3; H4H12166P4; H4H12166P5; H4H12166P6; H4H12166P7; H4H12166P8; H4H12166P9; H4H12166P10; H4H12167P; H4H12168P; H4H12169P; H4H12170P; H4H12171P; H4H12175P; H4H12176P2; H4H12177P2; H4H12183P2; H2M11682N; H2M11684N; H2M11694N; или H2M11695N).

Настоящее изобретение включает композиции, включающие моноклональные анти-C5 антигенсвязывающие белки (например, антитела и их антигенсвязывающие фрагменты). Термин "моноклональные антитела" или "mAb" в контексте настоящей

заявки относится к антителу из популяции по существу гомогенных антител, т.е. молекулы антител, составляющие популяцию, идентичны по аминокислотной последовательности, за исключением возможных встречающихся в природе мутаций, которые могут присутствовать в незначительных количествах. Определение "моноклональный" не следует толковать как требующий продуцирования антитела каким-либо конкретным способом. Моноклональные антитела можно получить гибридомным методом Kohler et al. (1975) Nature 256: 495, или можно получить методами рекомбинантной ДНК (см., например, патент США № 4816567).

"Выделенные" антигенсвязывающие белки (например, антитела или их антигенсвязывающие фрагменты), полипептиды, полинуклеотиды и векторы по меньшей мере частично свободны от других биологических молекул из клеток или клеточной культуры, из которых они получены. Такие биологические молекулы включают нуклеиновые кислоты, белки, другие антитела или антигенсвязывающие фрагменты, липиды, углеводы или другие материалы, такие как клеточный дебрис и среда для роста. Кроме того, выделенный антигенсвязывающий белок может быть по меньшей мере частично свободен от компонентов системы экспрессии, таких как биологические молекулы из клетки-хозяина или среды для ее роста. Как правило, термин "выделенный" не ограничивается полным отсутствием таких биологических молекул (например, могут остаться небольшие или незначительные количества примесей) или отсутствием воды, буферов или солей или компонентов фармацевтической композиции, которая включает антигенсвязывающие белки (например, антитела или антигенсвязывающие фрагменты).

"Анти-С5" антигенсвязывающий белок специфически связывается с С5. Термин "специфически связывается" относится к тем антигенсвязывающим белкам (например, mAbs), которые обладают аффинностью связывания с антигеном, таким как человеческий белок С5, при 25°C, выраженной как  $K_D$ , по меньшей мере около  $10^{-9}$  М или менее (более низкое значение) (например, около  $10^{-10}$  М, около  $10^{-11}$  М или около  $10^{-12}$  М), измеренное с использованием анализа биослойной интерферометрии без метки в реальном времени, например при 25°C или 37°C, например с биосенсором Octet® НТХ, или с использованием поверхностного плазмонного резонанса, например BIACORE™, или определения сродства в растворе методом ELISA. В некоторых вариантах осуществления изобретения анти-С5 антигенсвязывающий белок также связывается с вариантом С5, например, включающим мутацию, такую как R885H или R885C.

#### **Фармацевтические композиции**

Настоящее изобретение обеспечивает фармацевтические композиции, которые включают высокие концентрации (по меньшей мере 150 мг/мл или по меньшей мере 200 мг/мл) анти-С5 антигенсвязывающих белков (например, H2M11683N; H2M11686N; H4H12159P; H4H12161P; H4H12163P; H4H12164P; H4H12166P; H4H12166P2; H4H12166P3; H4H12166P4; H4H12166P5; H4H12166P6; H4H12166P7; H4H12166P8; H4H12166P9; H4H12166P10; H4H12167P; H4H12168P; H4H12169P; H4H12170P; H4H12171P; H4H12175P; H4H12176P2; H4H12177P2; H4H12183P2; H2M11682N;

H2M11684N; H2M11694N; H2M11695N; равулизумаба, экулизумаба, кровалимаба, тезидолумаба или мубодина), имеющие низкую вязкость (например, менее чем около 15 сПз, например, около 14 или 14,3), необязательно необязательно в сочетании с С5 миРНК (малая интерферирующая РНК), такой как цемдисиран. Например, настоящее изобретение включает фармацевтическую композицию, включающую, состоящую из или состоящую по существу из: 200 мг/мл позелимаба; 20 мМ гистидинового буфера; 100 мМ L-аргинина гидрохлорида; 2% (масс/об) сахарозы; 0,15% (масс/об) полисорбата-80; и воды, рН 5,8.

Фармацевтический состав или фармацевтическая композиция в контексте настоящей заявки относится к составу/композиции, включающей анти-С5 антигенсвязывающий белок и фармацевтически приемлемый носитель. Фармацевтически приемлемый носитель включает один или более эксципиентов. В варианте осуществления изобретения фармацевтическая композиция по настоящему изобретению является водной, т.е. включает воду.

Фармацевтические композиции, включающие анти-С5 антигенсвязывающие белки можно получить путем смешивания антигенсвязывающего белка с одним или более эксципиентами (см., например, Hardman, et al. (2001) Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics, McGraw-Hill, New York, N.Y.; Gennaro (2000) Remington: The Science and Practice of Pharmacy, Lippincott, Williams, and Wilkins, New York, N.Y.; Avis, et al. (eds.) (1993) Pharmaceutical Dosage Forms: Parenteral Medications, Marcel Dekker, NY; Lieberman, et al. (eds.) (1990) Pharmaceutical Dosage Forms: Tablets, Marcel Dekker, NY; Lieberman, et al. (eds.) (1990) Pharmaceutical Dosage Forms: Disperse Systems, Marcel Dekker, NY; Weiner and Kotkoskie (2000) Excipient Toxicity and Safety, Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y.).

В варианте осуществления изобретения фармацевтическая композиция по настоящему изобретению включает:

- $\geq 150$  мг/мл,  $\geq 200$  мг/мл,  $\geq 250$  мг/мл,  $\geq 274$  мг/мл или  $\geq 275$  мг/мл анти-С5 антигенсвязывающего белка (например, H2M11683N; H2M11686N; H4H12159P; H4H12161P; H4H12163P; H4H12164P; H4H12166P; H4H12166P2; H4H12166P3; H4H12166P4; H4H12166P5; H4H12166P6; H4H12166P7; H4H12166P8; H4H12166P9; H4H12166P10; H4H12167P; H4H12168P; H4H12169P; H4H12170P; H4H12171P; H4H12175P; H4H12176P2; H4H12177P2; H4H12183P2; H2M11682N; H2M11684N; H2M11694N; H2M11695N; равулизумаба, экулизумаба, кровалимаба, тезидолумаба или мубодина)

- Буфер (например, около 20 мМ);
- Аминокислоту (например, около 100 мМ);
- Необязательный сахар (например, около 2%);
- Необязательный неионогенный детергент (например, около 0,15%);

и

- Воду;
- рН около 5-6 (например, около рН 5,8).

В варианте осуществления изобретения фармацевтическая композиция по настоящему изобретению является водной (например, подходящей для внутривенного и/или подкожного введения) и включает анти-C5 антитело или его антигенсвязывающий фрагмент (например, позелимаб) (например, около 200 мг/мл или около 180-210 мг/мл), гистидин (например, гистидин-HCl; например, около 20 мМ или 20 мМ ± 4 мМ), рН около 5,8 или 5,8 ± 0,3, аргинин (например, около 100 мМ или 100 мМ ± 20 мМ; например L-аргинин, L-аргинин HCl или моногидрохлорид L-аргинина), полиол, такой как сахароза (например, около 2% или 2% ± 0,4% (масс/об)), и неионогенное поверхностно-активное вещество, такое как полисорбат (например, полисорбат 80; например, около 0,15% или 0,15% ± 0,075% (масс/об)), например,

200 мг/мл позелимаба;  
 20 мМ гистидинового буфера;  
 100 мМ L-аргинина гидрохлорида;  
 2% (масс/об) сахарозы;  
 0,15% (масс/об) полисорбата-80;  
 и воду,  
 рН 5,8.

“Аргинин” или “L-аргинин” включает его любую фармацевтически приемлемой солевую форму, например гидрохлорид L-аргинина.

Буферы регулируют уровни рН композиций и в некоторых случаях способствуют общей стабильности белкового продукта. В варианте осуществления изобретения буфер представляет собой фосфатный буфер, ацетатный буфер, цитратный буфер, гистидиновый буфер или имидазольный буфер.

Аминокислота может быть любой из 20 незаменимых аминокислот. В варианте осуществления изобретения аминокислота представляет собой глицин, аргинин, аспарагиновую кислоту, глутаминовую кислоту, лизин, аспарагин, глутамин, пролин или гистидин.

В варианте осуществления изобретения олигосахарид представляет собой сахарозу, маннит, декстрозу, глицерин, ТМАО (N-оксид триметиламина), трегалозу, этиленгликоль, глицин-бетаин, ксилит или сорбит.

Неионогенные детергенты содержат молекулы с незаряженными головными группами. В варианте осуществления изобретения неионогенный детергент представляет собой детергент на основе полиоксиэтилена или на основе гликозидного соединения. В варианте осуществления изобретения неионогенный детергент представляет собой полисорбат-20 (PS20), полисорбат-80 (PS80) или твин-20.

В варианте осуществления изобретения

- фармацевтическая композиция по настоящему изобретению (например, включающая H4N12166P) имеет вязкость около 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 14,3, 15, 16, 17, 18, 19 или 20 или 8-20 сПз при температуре около 20°C (например, при концентрации антитела около 200 мг/мл);

- фармацевтическая композиция имеет вязкость, указанную в Таблице 8-1 в настоящей заявке (например,  $\pm 10\%$ ) при измерении при указанной температуре, например, где антитело находится при концентрации, указанной в Таблице (например,  $\pm 1$  или 3 или 5 или  $10\%$ ), например, где антитело представляет собой Н4Н12166Р, например, где антитело сформулировано в около 20 мМ гистидина, рН около 5,8, около 100 мМ аргинина, около 2% сахарозы и около 0,15% полисорбата (например, полисорбат 80);
- фармацевтическая композиция по настоящему изобретению (например, включающая Н4Н12166Р) имеет вязкость около 50 сПз при 20°C (например, при концентрации антитела около 274 мг/мл);
- фармацевтическая композиция по настоящему изобретению (например, включающая Н4Н12166Р) имеет осмоляльность около 267-404 ммоль/кг;
- фармацевтическая композиция по настоящему изобретению (например, включающая Н4Н12166Р) содержит высокомолекулярные виды (%) около 1,1-2,1 (по данным эксклюзионной СВЭЖХ) или 0,1 (по данным МСЕ-SDS), при  $t=0$  (т.е. до любого значительного периода хранения или инкубации);
- фармацевтическая композиция по настоящему изобретению (например, включающая Н4Н12166Р) содержит низкомолекулярные виды (%) около 0,4-0,5 (по данным эксклюзионной СВЭЖХ) или 3,2 (по данным капиллярного электрофореза на микрочипах в невосстанавливающих условиях (МСЕ)-SDS (додецилсульфат натрия)), при  $t=0$ ;
- фармацевтическая композиция по настоящему изобретению (например, включающая Н4Н12166Р) содержит главные виды (%) около 98,5 (по данным эксклюзионной СВЭЖХ) или 96,7 (по данным МСЕ-SDS), при  $t=0$ ;
- фармацевтическая композиция по настоящему изобретению (например, включающая Н4Н12166Р) демонстрирует увеличение примерно на 0,1 или примерно на 0,2% или менее (например, около 0%) высокомолекулярных (НМВ) видов после перемешивания в течение около 6, 12, 18, 24, 36 или 48 часов, например, при 250 об/мин; например, по данным эксклюзионной СВЭЖХ или МСЕ-SDS;
- фармацевтическая композиция по настоящему изобретению (например, при концентрации антител около 274 мг/мл) (например, включающая Н4Н12166Р) демонстрирует увеличение около 0% (примерно до 7 дней перемешивания), около 0,2% (после около 6 месяцев перемешивания) или около 0,3% (примерно через 15,5 месяцев) высокомолекулярных (НМВ) видов, например, при 250 об/мин; например, по данным эксклюзионной СВЭЖХ;
- фармацевтическая композиция по настоящему изобретению (например, включающая Н4Н12166Р) демонстрирует увеличение на около 0,0, 0,1, 0,2, 0,3, 0,4, 0,5, около 0,6 или около 0,7% высокомолекулярных (НМВ) видов после перемешивания в течение около 24 часов или 48 часов, например, при 250 об/мин;
- фармацевтическая композиция по настоящему изобретению (например, включающая Н4Н12166Р) демонстрирует увеличение около 0% (или менее чем 0,1%)

высокомолекулярных (HMW) видов после 2 циклов замораживания (при  $-30^{\circ}\text{C}$ )-оттаивания (при комнатной температуре), например, объема 1,5 мл в контейнере емкостью 5 мл; например, по данным эксклюзивной СВЭЖХ;

- фармацевтическая композиция по настоящему изобретению (например, включающая H4H12166P) демонстрирует увеличение около 0 или 0,1% высокомолекулярных (HMW) видов или низкомолекулярных (LMW) видов после 4 циклов замораживания (при  $-30^{\circ}\text{C}$ )-оттаивания (при комнатной температуре), например, объема 1,5 мл в контейнере емкостью 5 мл; например, по данным эксклюзивной СВЭЖХ;

- фармацевтическая композиция по настоящему изобретению (например, включающая H4H12166P) демонстрирует увеличение на около 0,1% высокомолекулярных (HMW) видов после 8 циклов замораживания (при  $-30^{\circ}\text{C}$ )-оттаивания (при комнатной температуре), например, объема 1,5 мл в контейнере емкостью 5 мл; например, по данным эксклюзивной СВЭЖХ;

- фармацевтическая композиция по настоящему изобретению (например, включающая H4H12166P) демонстрирует увеличение около 0% (или менее чем около 0,1%) низкомолекулярных (LMW) видов после 2, 4 или 8 циклов замораживания (при  $-30^{\circ}\text{C}$ )-оттаивания (при комнатной температуре), например, объема 1,5 мл в контейнере емкостью 5 мл; например, по данным эксклюзивной СВЭЖХ;

- анти-C5 антигенсвязывающий белок (например, антитело или его антигенсвязывающий фрагмент (например, H4H12166P)) в фармацевтической композиции по настоящему изобретению имеет  $T_{m1}$  (начало) около  $58,0^{\circ}\text{C}$ ;  $T_{m1}$  составляет около  $61,7^{\circ}\text{C}$ ; а  $T_{m2}$  около  $73,2^{\circ}\text{C}$  (например, при измерении методом дифференциальной сканирующей калориметрии (DSC));

- один или более метионинов в анти-C5 антигенсвязывающем белке (например, антителе или его антигенсвязывающем фрагменте (например, H4H12166P)) в фармацевтической композиции по настоящему изобретению окисляются (например, Met105, Met252, Met428 тяжелой цепи и/или Met4 легкой цепи, например, H4H12166P), например, на уровне около 6% или менее, или около 5% или менее, около 4% или менее, около 3% или менее, около 2% или менее, около 1% или менее, например, где окисленный метионин представляет собой метионинсульфоксид или метионинсульфон, при инкубации при  $37^{\circ}\text{C}$  в присутствии 0 или 1 частей на миллион (ч/млн)  $\text{H}_2\text{O}_2$  в течение примерно 24 часов;

- в фармацевтической композиции по настоящему изобретению метионин 105 CDR тяжелой цепи (например, H4H12166P) окисляется (например, до метионинсульфоксида или метионинсульфона) на уровне около 4,2 или 4,3% при инкубации при  $37^{\circ}\text{C}$  в присутствии 0 или 1 ч/млн  $\text{H}_2\text{O}_2$  в течение примерно 24 часов,

- в фармацевтической композиции по настоящему изобретению уровень окисленных Met105, Met252, Met428 тяжелой цепи и/или Met4 легкой цепи, например H4H12166P, при инкубации в течение 24 часов при  $37^{\circ}\text{C}$  в 1 ч/млн  $\text{H}_2\text{O}_2$  не увеличивается

более чем на около 0,1 или 0,2% относительно инкубации без  $H_2O_2$  после 24 часов инкубации при 37°C или без инкубации;

- фармацевтическая композиция по настоящему изобретению (например, включающая Н4Н12166Р) включает содержание эндотоксина менее чем или равное примерно 0,1 ЕЭ/мг;

- фармацевтическая композиция по настоящему изобретению (например, включающая Н4Н12166Р) включает около 0,9% (или менее) высокомолекулярных (НМВ) видов (например, по данным эксклюзионной сверхвысокоэффективной жидкостной хроматографии (эксклюзионной СВЭЖХ)), например, перед хранением или инкубацией в течение значительного периода времени;

- фармацевтическая композиция по настоящему изобретению (например, включающая Н4Н12166Р) включает около 0,2% (или менее) низкомолекулярных (LMW) видов (например, по данным эксклюзионной сверхвысокоэффективной жидкостной хроматографии (эксклюзионной СВЭЖХ)), например, перед хранением или инкубацией в течение значительного периода времени;

- фармацевтическая композиция по настоящему изобретению (например, включающая Н4Н12166Р) включает около 98,9, 99 или 100% главных видов (например, по данным эксклюзионной сверхвысокоэффективной жидкостной хроматографии (эксклюзионной СВЭЖХ)), например, перед хранением или инкубацией в течение значительного периода времени;

- фармацевтическая композиция по настоящему изобретению (например, включающая Н4Н12166Р) включает около 0,9, менее чем около 1,0, около 1,0 или около 1,1 или около 1,2 или около 0,9-1,2% высокомолекулярных (НМВ) видов (например, по данным эксклюзионной сверхвысокоэффективной жидкостной хроматографии (эксклюзионной СВЭЖХ)) после примерно 1, примерно 3 или примерно 6 месяцев или примерно 9 месяцев или примерно 12 месяцев хранения при около 5°C, например, где процентное содержание НМВ видов не увеличивается более чем на около 0,1% или 0,2% или 0,3% после примерно 1, примерно 3, или примерно 6, или примерно 9, или примерно 12 месяцев хранения при около 5°C;

- фармацевтическая композиция по настоящему изобретению (например, включающая Н4Н12166Р) включает около 2, 2,1, 2,2, 2,3 или 2,4% высокомолекулярных (НМВ) видов (например, по данным эксклюзионной сверхвысокоэффективной жидкостной хроматографии (эксклюзионной СВЭЖХ)) после примерно 2 дней, 7 дней, 6 месяцев или 15,5 месяцев хранения при около 5°C, например, где процентное содержание НМВ видов не увеличивается более чем на около 0,1% или 0,2% или 0,3% после примерно 6 месяцев или 15,5 месяцев хранения при около 5°C;

- фармацевтическая композиция по настоящему изобретению (например, включающая Н4Н12166Р) включает около 1,1, около 1,2, около 1,3, около 1,4 или около 1,5% или около 1,1-1,5% высокомолекулярных (НМВ) видов (например, по данным эксклюзионной сверхвысокоэффективной жидкостной хроматографии (эксклюзионной

СВЭЖХ)) после примерно 0,5, примерно 1, примерно 3 или примерно 6 месяцев хранения при около 25°C, например при относительной влажности около 60%, например, где % НМВ видов не увеличивается более чем на около 0,6% после примерно 6 месяцев инкубации;

- фармацевтическая композиция по настоящему изобретению (например, включающая Н4Н12166Р) включает около 1,3, около 1,4, около 1,9, около 3,8 или около 5,8% или около 1,3-5,8% высокомолекулярных (НМВ) видов (например, по данным эксклюзионной сверхвысокоэффективной жидкостной хроматографии (эксклюзионной СВЭЖХ)) после примерно 0,25, примерно 0,5, примерно 1, примерно 2 или примерно 3 месяцев хранения при около 40°C, например при относительной влажности около 75%, например, где % НМВ видов не увеличивается более чем на около 4,5% после примерно 3 месяцев инкубации;

- фармацевтическая композиция по настоящему изобретению (например, включающая Н4Н12166Р) включает около 0,2, около 0,3, около 0,4, около 0,5 или около 0,4%-0,6 или 0,2-0,4% низкомолекулярных (LMW) видов (например, по данным эксклюзионной сверхвысокоэффективной жидкостной хроматографии (эксклюзионной СВЭЖХ)) после примерно 1, примерно 3, примерно 6, примерно 9 или примерно 12 месяцев хранения при около 5°C, например, где процентное содержание LMW видов не увеличивается более чем на около 0,1%, или 0,2%, или 0,3%, или 0,4% после примерно 1, 3, 6, 9 или 12 месяцев хранения при около 5°C;

- фармацевтическая композиция по настоящему изобретению (например, включающая Н4Н12166Р) включает около 0,2, около 0,3 или около 0,4 или около 0,2-0,4% низкомолекулярных (LMW) видов (например, по данным эксклюзионной сверхвысокоэффективной жидкостной хроматографии (эксклюзионной СВЭЖХ)) после примерно 0,5, примерно 1, примерно 3 или примерно 6 месяцев хранения при около 25°C, например при относительной влажности около 60%, например, где процентное содержание LMW видов не увеличивается более чем на около 0,1% после примерно 0,5, 1, 3 или 6 месяцев хранения при около 5°C;

- фармацевтическая композиция по настоящему изобретению (например, включающая Н4Н12166Р) включает около 0,3, около 0,4, около 0,5, около 0,6, около 0,7, около 0,8 или около 0,3-0,8% низкомолекулярных (LMW) видов (например, по данным эксклюзионной сверхвысокоэффективной жидкостной хроматографии (эксклюзионной СВЭЖХ)) после примерно 0,25, примерно 0,5, примерно 1, примерно 2 или примерно 3 месяцев хранения при около 40°C, например при относительной влажности около 75%, например, где процентное содержание LMW видов не увеличивается более чем на около 0,1, 0,2, 0,3, 0,4 или 0,5% после примерно 0,25, 0,5, 1, 2 или 3 месяцев хранения при около 5°C;

- фармацевтическая композиция по настоящему изобретению (например, включающая Н4Н12166Р) включает около 98, около 98,3, около 98,7, около 98,8, около 99 или около 98-99% главных видов (например, по данным эксклюзионной

сверхвысокоэффективной жидкостной хроматографии (эксклюзионной СВЭЖХ)) после примерно 1, примерно 3, примерно 6, примерно 9 месяцев или примерно 12 месяцев хранения при около 5°C, например, где процентное содержание главных видов не снижается более чем на около 0,1, 0,2, 0,3, 0,4, 0,5 или 0,6% после примерно 1, 3, 6, 9 или 12 месяцев хранения при около 5°C;

- фармацевтическая композиция по настоящему изобретению (например, включающая Н4Н12166Р) включает около 98, около 98,6, около 98,4, около 98,7, около 98,8, около 98,1, около 99 или около 98-99% главных видов (например, по данным эксклюзионной сверхвысокоэффективной жидкостной хроматографии (эксклюзионной СВЭЖХ)) после примерно 0,5, примерно 1, примерно 3 или примерно 6 месяцев хранения при около 25°C, например при относительной влажности около 60%, например, где процентное содержание главных видов не снижается более чем на около 0,1, 0,2, 0,3, 0,4, 0,5, 0,6, 0,7 или 0,8% после примерно 1, 3 или 6 месяцев хранения при около 25°C;

- фармацевтическая композиция по настоящему изобретению (например, включающая Н4Н12166Р) включает около 98,3, около 98,4, около 97,6, около 95,5, около 93,4, или около 93,4-98,4, или около 93-98% главных видов (например, по данным эксклюзионной сверхвысокоэффективной жидкостной хроматографии (эксклюзионной СВЭЖХ)) после примерно 0,25, примерно 0,5, примерно 1, примерно 2 или примерно 6 месяцев хранения при около 40°C, например при относительной влажности около 75%, например, где процентное содержание главных видов не снижается более чем на около 1, 2, 3, 4, 5 или 5,5% после примерно 0,25, 0,5, 1, 2 или 3 месяцев хранения при около 40°C;

- фармацевтическая композиция по настоящему изобретению (например, включающая Н4Н12166Р) включает около 29% вариантов с кислотным зарядом, около 11% вариантов с основным зарядом и/или около 60% главных видов, например, по данным капиллярного изоэлектрического фокусирования с визуализацией (iCIEF), например, перед хранением или инкубацией в течение значительного периода времени;

- фармацевтическая композиция по настоящему изобретению (например, включающая Н4Н12166Р) включает около 30, 31 или 32% вариантов с кислотным зарядом, около 14, 13, 12 или 11% вариантов с основным зарядом и/или около 56 или 57% главных видов, например, по данным капиллярного изоэлектрического фокусирования с визуализацией (iCIEF), например, после примерно 6, 9 или 12 месяцев хранения при около 5°C; и/или не демонстрирует увеличения вариантов с кислотным зарядом более чем на около 3,0 или 3,1% после 12 месяцев хранения при 5°C, и/или не демонстрирует снижения содержания главных видов более чем на около 3,0 или 3,1% после 12 месяцев хранения при 5°C, и/или не демонстрирует увеличения более чем на около 0,1 или 0% вариантов с основным зарядом после 12 месяцев хранения при 5°C;

- фармацевтическая композиция по настоящему изобретению (например, включающая Н4Н12166Р) включает около 33% вариантов с кислотным зарядом, около 20% вариантов с основным зарядом и/или около 47% главных видов, например, по данным капиллярного изоэлектрического фокусирования с визуализацией (iCIEF),

например, после примерно 6 месяцев хранения при около 25°C;

- фармацевтическая композиция по настоящему изобретению (например, включающая H4H12166P) включает около 45% вариантов с кислотным зарядом, около 36% вариантов с основным зарядом и/или около 20% главных видов, например, по данным капиллярного изоэлектрического фокусирования с визуализацией (iCIEF), например, после примерно 3 месяцев хранения при около 40°C;

- когда фармацевтическая композиция по настоящему изобретению (например, включающая H4H12166P) хранится при около 37°C, она образует HMW виды со скоростью около 0,6% в месяц и/или образует кислотные варианты со скоростью около 0,6% в месяц;

- когда фармацевтическая композиция по настоящему изобретению (например, включающая H4H12166P) хранится при около 40°C, она образует HMW виды со скоростью около 1,2% в месяц и/или образует кислотные варианты со скоростью около 3,1% в месяц; и/или

- когда фармацевтическая композиция по настоящему изобретению (например, включающая H4H12166P) хранится при около 45°C, она образует HMW виды со скоростью около 2,6% в месяц и/или образует кислотные варианты со скоростью около 8,8% в месяц;

например, где композиция включает буфер, L-аргинин, воду, необязательно олигосахарид, необязательно неионогенный детергент и имеет уровень pH около 5,8 (например, с вязкостью около 14,3, или около 14, или около 15 при 20°C).

Настоящее изобретение включает варианты осуществления, в которых любой один или более вариантов, выбранных из вышеперечисленных, характеризуют любой из описанных в настоящей заявке анти-C5 антигенсвязывающих белков.

В варианте осуществления изобретения композиция включает:

- около 150 мг/мл, 175 мг/мл, 200 мг/мл, 211 мг/мл, 220 мг/мл, 242 мг/мл или 274 мг/мл анти-C5 антитела или его антигенсвязывающего фрагмента (например, H2M11683N; H2M11686N; H4H12159P; H4H12161P; H4H12163P; H4H12164P; H4H12166P; H4H12166P2; H4H12166P3; H4H12166P4; H4H12166P5; H4H12166P6; H4H12166P7; H4H12166P8; H4H12166P9; H4H12166P10; H4H12167P; H4H12168P; H4H12169P; H4H12170P; H4H12171P; H4H12175P; H4H12176P2; H4H12177P2; H4H12183P2; H2M11682N; H2M11684N; H2M11694N; H2M11695N; равулизумаба, экулизумаба, кровалимаба, тезидолумаба или мубодина)

- Гистидиновый буфер (например, около 20 мМ),
- L-аргинин (например, L-аргинин HCl) (например, около 100 мМ)
- Необязательно, сахарозу (например, около 2% (масс/об))
- Необязательно, полисорбат-80 (PS-80) (например, около 0,15% (масс/об));

и

- Воду;

pH около 5,8;

например, имея вязкость около 13,2-16,7, или 14, или около 14,3, или около 15 сПз (например, при 20°C).

Настоящее изобретение включает фармацевтическую композицию, включающую около 200 мг/мл H2M11683N; около 20 мМ гистидинового буфера; около 100 мМ L-аргинина; около 2% (масс/об) сахарозы; около 0,15% (масс/об) полисорбата-80 (PS-80) и воду, pH  $5,8 \pm 0,2$ .

Настоящее изобретение включает фармацевтическую композицию, включающую около 200 мг/мл H2M11686N; около 20 мМ гистидинового буфера; около 100 мМ L-аргинина; около 2% (масс/об) сахарозы; около 0,15% (масс/об) полисорбата-80 и воду, pH  $5,8 \pm 0,2$ .

Настоящее изобретение включает фармацевтическую композицию, включающую около 200 мг/мл H4H12159P; около 20 мМ гистидинового буфера; около 100 мМ L-аргинина; около 2% (масс/об) сахарозы; около 0,15% (масс/об) полисорбата-80 и воду, pH  $5,8 \pm 0,2$ .

Настоящее изобретение включает фармацевтическую композицию, включающую около 200 мг/мл H4H12161P; около 20 мМ гистидинового буфера; около 100 мМ L-аргинина; около 2% (масс/об) сахарозы; около 0,15% (масс/об) полисорбата-80 и воду, pH  $5,8 \pm 0,2$ .

Настоящее изобретение включает фармацевтическую композицию, включающую около 200 мг/мл H4H12163P; около 20 мМ гистидинового буфера; около 100 мМ L-аргинина; около 2% (масс/об) сахарозы; около 0,15% (масс/об) полисорбата-80 и воду, pH  $5,8 \pm 0,2$ .

Настоящее изобретение включает фармацевтическую композицию, включающую около 200 мг/мл H4H12164P; около 20 мМ гистидинового буфера; около 100 мМ L-аргинина; около 2% (масс/об) сахарозы; около 0,15% (масс/об) полисорбата-80 и воду, pH  $5,8 \pm 0,2$ .

Настоящее изобретение включает фармацевтическую композицию, включающую около 200 мг/мл H4H12166P; около 20 мМ гистидинового буфера; около 100 мМ L-аргинина; около 2% (масс/об) сахарозы; около 0,15% (масс/об) полисорбата-80 и воду, pH  $5,8 \pm 0,2$ .

Настоящее изобретение включает фармацевтическую композицию, включающую около 200 мг/мл H4H12166P2; около 20 мМ гистидинового буфера; около 100 мМ L-аргинина; около 2% (масс/об) сахарозы; около 0,15% (масс/об) полисорбата-80 и воду, pH  $5,8 \pm 0,2$ .

Настоящее изобретение включает фармацевтическую композицию, включающую около 200 мг/мл H4H12166P3; около 20 мМ гистидинового буфера; около 100 мМ L-аргинина; около 2% (масс/об) сахарозы; около 0,15% (масс/об) полисорбата-80 и воду, pH  $5,8 \pm 0,2$ .

Настоящее изобретение включает фармацевтическую композицию, включающую около 200 мг/мл H4H12166P4; около 20 мМ гистидинового буфера; около 100 мМ L-





аргинина; около 2% (масс/об) сахарозы; около 0,15% (масс/об) полисорбата-80 и воду, рН  $5,8 \pm 0,2$ .

Настоящее изобретение включает фармацевтическую композицию, включающую около 200 мг/мл экулизумаб; около 20 мМ гистидинового буфера; около 100 мМ L-аргинина; около 2% (масс/об) сахарозы; около 0,15% (масс/об) полисорбата-80 и воду, рН  $5,8 \pm 0,2$ .

Настоящее изобретение включает фармацевтическую композицию, включающую около 200 мг/мл тезидолумаб; около 20 мМ гистидинового буфера; около 100 мМ L-аргинина; около 2% (масс/об) сахарозы; около 0,15% (масс/об) полисорбата-80 и воду, рН  $5,8 \pm 0,2$ .

Настоящее изобретение включает фармацевтическую композицию, включающую около 200 мг/мл мубодина; около 20 мМ гистидинового буфера; около 100 мМ L-аргинина; около 2% (масс/об) сахарозы; около 0,15% (масс/об) полисорбата-80 и воду, рН  $5,8 \pm 0,2$ .

Настоящее изобретение включает фармацевтическую композицию, включающую около 200 мг/мл H4N12166P, около 5 мМ гистидина, около 2,5% (масс/об) пролина, около 5% (масс/об) сахарозы, около 150 мМ L-аргинина-HCl, около 0,2% (масс/об) PS-80 и воду, рН около 5,7.

Настоящее изобретение включает фармацевтическую композицию, включающую около 135 мг/мл H4N12166P, около 20 мМ гистидина, около 5% (масс/об) пролина, около 10% (масс/об) сахарозы, около 150 мМ L-аргинина-HCl, около 0,02% (масс/об) PS-80 и воду, рН около 5,7.

Настоящее изобретение включает фармацевтическую композицию, включающую около 160 мг/мл H4N12166P, около 5 мМ гистидина, около 5% (масс/об) сахарозы, около 75 мМ L-аргинина-HCl, около 0,02% (масс/об) PS-80 и воду, рН около 6,2.

Настоящее изобретение включает фармацевтическую композицию, включающую около 120 мг/мл H4N12166P, около 40 мМ гистидина, около 5% (масс/об) пролина, около 0,02% (масс/об) PS-80 и воду, рН около 6,8.

Настоящее изобретение включает фармацевтическую композицию, включающую около 120 мг/мл H4N12166P, около 40 мМ гистидина, около 0,02% (масс/об) PS-80 и воду, рН около 5,7.

Настоящее изобретение включает фармацевтическую композицию, включающую около 160 мг/мл H4N12166P, около 5 мМ гистидина, около 2,5% (масс/об) пролина, около 10% (масс/об) сахарозы, около 0,2% (масс/об) PS-80 и воду, рН около 6,8.

Настоящее изобретение включает фармацевтическую композицию, включающую около 120 мг/мл H4N12166P, около 40 мМ гистидина, около 5% (масс/об) пролина, около 150 мМ L-аргинина-HCl, около 0,02% (масс/об) PS-80 и воду, рН около 5,7.

Настоящее изобретение включает фармацевтическую композицию, включающую около 200 мг/мл H4N12166P, около 5 мМ гистидина, около 0,2% (масс/об) PS-80 и воду, рН около 5,7.





pH около 5,7.

См., например, Фиг. 14. Настоящее изобретение включает любую из фармацевтических композиций, описанных на Фиг. 14.

Настоящее изобретение обеспечивает сосуд (например, пластиковый или стеклянный флакон, например с крышкой, или хроматографическая колонка, полая игла или цилиндр шприца), включающий фармацевтическую композицию по настоящему изобретению, которая включает анти-С5 антигенсвязывающий белок, например H2M11683N; H2M11686N; H4H12159P; H4H12161P; H4H12163P; H4H12164P; H4H12166P; H4H12166P2; H4H12166P3; H4H12166P4; H4H12166P5; H4H12166P6; H4H12166P7; H4H12166P8; H4H12166P9; H4H12166P10; H4H12167P; H4H12168P; H4H12169P; H4H12170P; H4H12171P; H4H12175P; H4H12176P2; H4H12177P2; H4H12183P2; H2M11682N; H2M11684N; H2M11694N; H2M11695N; равулизумаб, экулизумаб, кровалимаб, тезидолумаб или мубодина.

Настоящее изобретение также обеспечивает инъекционное устройство, содержащее фармацевтическую композицию по настоящему изобретению, включающую анти-С5 антигенсвязывающий белок, например H2M11683N; H2M11686N; H4H12159P; H4H12161P; H4H12163P; H4H12164P; H4H12166P; H4H12166P2; H4H12166P3; H4H12166P4; H4H12166P5; H4H12166P6; H4H12166P7; H4H12166P8; H4H12166P9; H4H12166P10; H4H12167P; H4H12168P; H4H12169P; H4H12170P; H4H12171P; H4H12175P; H4H12176P2; H4H12177P2; H4H12183P2; H2M11682N; H2M11684N; H2M11694N; H2M11695N; равулизумаб, экулизумаб, кровалимаб, тезидолумаб или мубодина. Инъекционное устройство может быть упаковано в набор. Инъекционное устройство представляет собой устройство, которое вводит вещество в организм субъекта парентеральным путем, например, внутриглазным, интравитреальным, внутримышечным, подкожным или внутривенным. Например, инъекционное устройство может представлять собой шприц или автоматический инжектор (например, предварительно заполненный фармацевтической композицией), который, например, включает цилиндр или цилиндр шприца для удержания жидкости для инъекции (например, включающей антитело или его фрагмент или фармацевтическую композицию), иглу для прокола кожи, кровеносных сосудов или другой ткани для инъекции жидкости; и поршень для выталкивания жидкости из цилиндра через отверстие иглы в организм субъекта.

Настоящее изобретение также включает набор, включающий сосуд (например, флакон) или инъекционное устройство, включающее (а) фармацевтическую композицию по настоящему изобретению, включающую анти-С5 антигенсвязывающий белок, например H2M11683N; H2M11686N; H4H12159P; H4H12161P; H4H12163P; H4H12164P; H4H12166P; H4H12166P2; H4H12166P3; H4H12166P4; H4H12166P5; H4H12166P6; H4H12166P7; H4H12166P8; H4H12166P9; H4H12166P10; H4H12167P; H4H12168P; H4H12169P; H4H12170P; H4H12171P; H4H12175P; H4H12176P2; H4H12177P2; H4H12183P2; H2M11682N; H2M11684N; H2M11694N; H2M11695N; равулизумаб, экулизумаб, кровалимаб, тезидолумаб или мубодина; и (b) сосуд (например, флакон) или

инъекционное устройство, включающее олигонуклеотид, например цемдисирам, или его фармацевтическую композицию, которая включает фармацевтически приемлемый носитель и, необязательно, одно или более дополнительных материалов, таких как, например, письменные материалы (например, инструкции по применению).

Для получения фармацевтических композиций по настоящему изобретению, анти-С5 антигенсвязывающий белок, например антитело или его антигенсвязывающий фрагмент (например, H2M11683N; H2M11686N; H4H12159P; H4H12161P; H4H12163P; H4H12164P; H4H12166P; H4H12166P2; H4H12166P3; H4H12166P4; H4H12166P5; H4H12166P6; H4H12166P7; H4H12166P8; H4H12166P9; H4H12166P10; H4H12167P; H4H12168P; H4H12169P; H4H12170P; H4H12171P; H4H12175P; H4H12176P2; H4H12177P2; H4H12183P2; H2M11682N; H2M11684N; H2M11694N; H2M11695N; равулизумаб, экулизумаб, кровалимаб, тезидолумаб или мубодина) смешивают с требуемыми эксципиентами (например, гистидином, аргинином, сахарозой, PS-80 и водой) и, необязательно, дополнительным терапевтическим средством. Необязательно, фармацевтическую композицию затем лиофилизируют. Такие способы и фармацевтические композиции, являющиеся результатом таких способов, также являются частью настоящего изобретения.

В варианте осуществления изобретения фармацевтическая композиция по настоящему изобретению включает не более одного анти-С5 антигенсвязывающего белка. В варианте осуществления изобретения фармацевтическая композиция по настоящему изобретению включает более одного анти-С5 антигенсвязывающего белка, например 2 или 3. В варианте осуществления изобретения, когда два или более анти-С5 антигенсвязывающих белков присутствуют в фармацевтической композиции по настоящему изобретению, два или более антигенсвязывающих белков не конкурируют за связывание с С5 (например, H4H12176P2+H4H12177P2; H4H12166P8+H4H12170P; H4H12166P+H4H12170P; H4H12166P+H4H12161P; H4H12166P+H4H12171P; H4H12166P+H4H12175P; H4H12166P+H4H12176P2 или H4H12166P+H4H12177P2). В варианте осуществления изобретения, когда присутствуют два или более анти-С5 антигенсвязывающих белков, они конкурируют за связывание с С5.

### **Комбинации**

Настоящее изобретение обеспечивает фармацевтические композиции, которые включают анти-С5 антигенсвязывающий белок (например, H2M11683N; H2M11686N; H4H12159P; H4H12161P; H4H12163P; H4H12164P; H4H12166P; H4H12166P2; H4H12166P3; H4H12166P4; H4H12166P5; H4H12166P6; H4H12166P7; H4H12166P8; H4H12166P9; H4H12166P10; H4H12167P; H4H12168P; H4H12169P; H4H12170P; H4H12171P; H4H12175P; H4H12176P2; H4H12177P2; H4H12183P2; H2M11682N; H2M11684N; H2M11694N; H2M11695N; равулизумаб, экулизумаб, кровалимаб, тезидолумаб или мубодина) в сочетании с одним или более дополнительными терапевтическими средствами; а также способы их применения и способы изготовления таких композиций.

В варианте осуществления изобретения дополнительное терапевтическое средство представляет собой олигонуклеотид (например, ДНК или РНК или их дуплекс), например, который связывается с ДНК или мРНК, кодирующей С5. В варианте осуществления изобретения олигонуклеотид имеет длину до около 23, около 19-22, около 19-23 или около 19, около 20, около 21, около 22 или около 23 нуклеотидов (например, молекула РНК из 19-23 нуклеотидов). В варианте осуществления изобретения олигонуклеотид является одноцепочечным (например, в антисмысловой ориентации) или двухцепочечным. Двухцепочечный олигонуклеотид включает цепь в смысловой ориентации и цепь в антисмысловой ориентации. В варианте осуществления изобретения двухцепочечный олигонуклеотид (например, РНК) имеет 3'-концевую избыточность и/или 5'-концевую избыточность, например по меньшей мере из двух нуклеотидов. В варианте осуществления изобретения олигонуклеотид является депротенинизированным, а в другом варианте осуществления олигонуклеотид химически модифицирован.

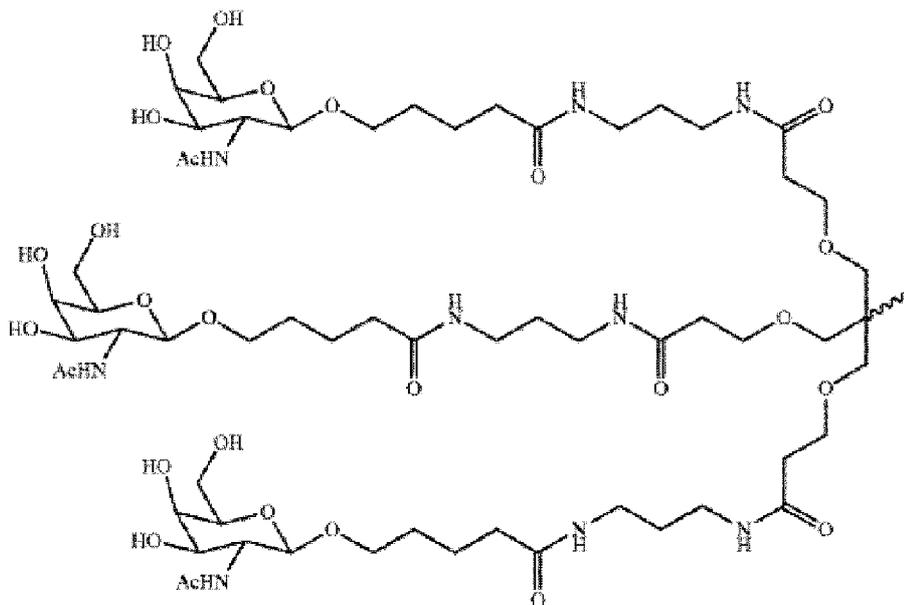
В варианте осуществления изобретения дополнительным терапевтическим средством является средство на основе РНК-интерференции, которое связывается с РНК, кодирующей С5 или его часть. Средство на основе РНКи относится к средству, которое содержит РНК и который опосредует целевое расщепление транскрипта РНК через путь РНК-индуцируемого сайленсинг-комплекса (RISC). РНКи направляет специфичную для последовательности деградацию мРНК посредством процесса, известного как РНК-интерференция. РНКи модулирует, например ингибирует экспрессию С5 в клетке, например, в клетке субъекта, такого как субъект-млекопитающее.

В одном варианте осуществления настоящего изобретения средство на основе РНК-интерференции по изобретению включает одноцепочечную РНК, которая взаимодействует с последовательностью РНК-мишени, например, последовательностью мРНК-мишени С5, чтобы направлять расщепление РНК-мишени. Не желая быть связанными теорией, полагают, что длинная двухцепочечная РНК (дцРНК), введенная в клетки, расщепляется на миРНК эндонуклеазой типа III, известной как Dicer (Sharp et al. (2001) *Genes Dev.* 15:485). Dicer, фермент, подобный рибонуклеазе-III, процессирует дцРНК в короткие интерферирующие РНК из 19-23 пар оснований с характерными 3'-концевыми избыточностями из двух оснований (Bernstein, et al., (2001) *Nature* 409:363). Затем миРНК включают в РНК-индуцируемый сайленсинг-комплекс (RISC), где одна или более геликаз раскручивают дуплекс миРНК, позволяя комплементарной антисмысловой цепи направлять распознавание мишени (Nykanen, et al., (2001) *Cell* 107:309). При связывании с соответствующей мРНК-мишенью одна или более эндонуклеаз в RISC расщепляют мишень, вызывая сайленсинг (Elbashir, et al., (2001) *Genes Dev.* 15:188). Таким образом, в одном аспекте настоящее изобретение относится к одноцепочечной РНК (миРНК), генерируемой внутри клетки и способствующей образованию комплекса RISC для осуществления сайленсинга гена-мишени, т.е. гена С5. Соответственно, термин "миРНК" также используется в настоящей заявке для обозначения РНКи, как описано в настоящей заявке.

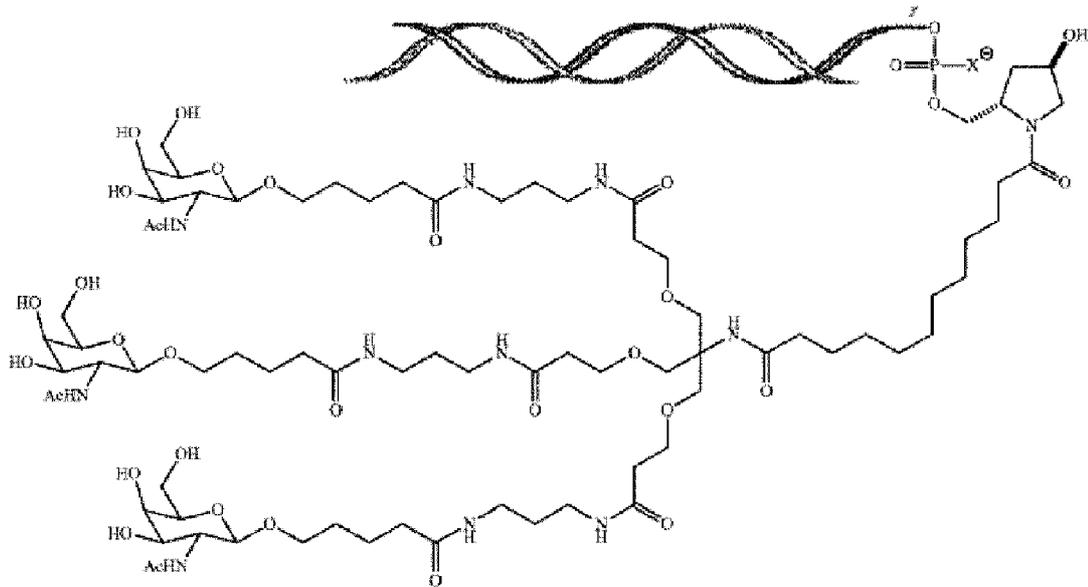
В другом варианте осуществления средство на основе РНК-интерференции может представлять собой одноцепочечную миРНК, которую вводят в клетку или организм для ингибирования мРНК-мишени. В варианте осуществления изобретения одноцепочечные агенты РНК-интерференции связываются с эндонуклеазой RISC, Argonaute 2, которая затем расщепляет мРНК-мишень. Одноцепочечные миРНК в варианте осуществления изобретения состоят из 15-30 нуклеотидов и химически модифицированы. Конструирование и тестирование одноцепочечных миРНК описаны в патенте США № 8101348 и в Lima et al., (2012) Cell 150: 883-894, полное содержание каждого из которых включено в настоящую заявку посредством ссылки. Любую из антисмысловых нуклеотидных последовательностей, описанных в настоящей заявке, можно использовать в качестве одноцепочечной миРНК, как описано в настоящей заявке, или как химически модифицированную способами, описанными в Lima et al., (2012) Cell 150:883-894.

В другом варианте осуществления настоящего изобретения средство на основе РНК-интерференции представляет собой двухцепочечную РНК (дцРНК). дцРНК относится к комплексу молекул рибонуклеиновой кислоты, имеющему дуплексную структуру, состоящую из двух антипараллельных и по существу комплементарных нитей нуклеиновой кислоты, имеющих "смысловую" и "антисмысловую" ориентацию по отношению к РНК-мишени, т.е. гену С5. В некоторых вариантах осуществления изобретения двухцепочечная РНК (дцРНК) запускает деградацию РНК-мишени, например мРНК, посредством механизма посттранскрипционного сайленсинга генов, называемого РНК-интерференцией.

В варианте осуществления изобретения олигонуклеотид (например, РНКи) конъюгируют с другой молекулой, такой как сахар, такой как N-ацетилгалактозаминное (GalNAc) производное, такое как



В варианте осуществления изобретения олигонуклеотид (например, РНКи) конъюгируют с другой молекулой, как показано на следующей схеме:



где X представляет собой O или S.

В варианте осуществления изобретения дополнительное терапевтическое средство представляет собой цемдисиран. В варианте осуществления изобретения дополнительное терапевтическое средство представляет собой двухцепочечную РНК, включающую нуклеотидную последовательность антисмысловой цепи:

5'-UAUUAUAAAAUAUCUUGCUUUU-3' (SEQ ID NO: 358);

и/или смысловая цепь включает нуклеотидную последовательность:

5'-AAGCAAGAUUUUUUAUAAUA-3' (SEQ ID NO: 359).

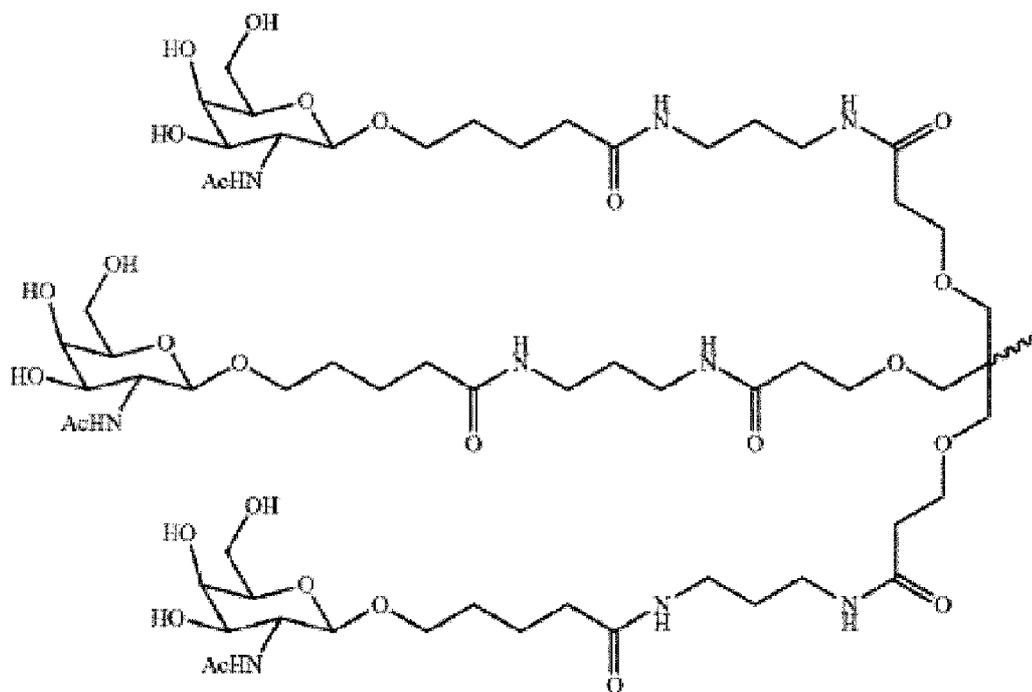
В варианте осуществления изобретения дополнительное терапевтическое средство представляет собой средство на основе двухцепочечной рибонуклеиновой кислоты (дцРНК) для ингибирования экспрессии компонента C5 системы комплемента, где указанное дцРНК средство включает смысловую цепь и антисмысловую цепь, где смысловая цепь включает:

5'-asasGfcAfaGfaUfAfUfuUfuuAfuAfaua-3' (SEQ ID NO: 360)

и антисмысловая цепь включает:

5'-usAfsUfuAfuaAfaAfaUfcUfuGfcuusudTdT-3' (SEQ ID NO: 361),

где a, g, c и u представляют собой 2'-O-метил (2'-OMe) A, G, C и U, соответственно; Af, Gf, Cf и Uf представляют собой 2'-фтор A, G, C и U, соответственно; dT представляет собой дезокситиминовый нуклеотид; и s представляет собой фосфоротиоатную связь; и при этом указанная смысловая цепь конъюгирована на 3'-конце с лигандом:



См. патент США № 9249415.

В варианте осуществления изобретения РНКи содержится в фармацевтической композиции, включающей липидную наночастицу (LNP). LNP представляет собой везикулу, включающую липидный слой, инкапсулирующий фармацевтически активную молекулу, такую как РНКи. LNP описаны, например, в патентах США №№ 6858225, 6815432, 8158601 и 8058069, полное содержание которых включено в настоящую заявку посредством ссылки.

В варианте осуществления изобретения дополнительное терапевтическое средство представляет собой антикоагулянт, варфарин, аспирин, гепарин, фениндион, фондапаринукс, идрапаринукс, ингибитор тромбина, аргатробан, лепирудин, бивалирудин, дабигатран, противовоспалительное лекарственное средство, кортикостероид, нестероидное противовоспалительное средство (НПВС), антигипертензивное средство, ингибитор ангиотензинпревращающего фермента, иммунодепрессант, винкристин, циклоспорин А или метотрексат, фибринолитическое средство анкрод, Е-аминокапроновую кислоту, антиплазмин-а1, простаглицлин, дефибротид, гиполипидемическое средство, ингибитор гидроксиметилглутарил-КоА-редуктазы, анти-CD20 средство, ритуксимаб, анти-TNFальфа средство, инфликсимаб, противосудорожное средство, сульфат магния, ингибитор С3 и/или антитромботическое средство.

Термин "в сочетании с" указывает, что компоненты фармацевтической композиции, (1) анти-С5 антигенсвязывающий белок и фармацевтически приемлемые компоненты носителя, вместе с (2) одним или более дополнительными терапевтическими средствами, такими как цемдисирам, можно сформулировать в единую композицию, например, для одновременной доставки, или сформулировать отдельно в две или более

композиций (например, набор, включающий каждый компонент, например, в котором дополнительное терапевтическое средство находится в отдельной композиции). Компоненты, вводимые совместно друг с другом, можно вводить субъекту в одно и то же или в разное время; например, каждое введение можно осуществлять одновременно (например, вместе в одной композиции или по существу одновременно в течение одного и того же сеанса введения) или не одновременно через один или более интервалов в течение заданного периода времени. Более того, отдельные компоненты, вводимые в сочетании друг с другом, могут быть введены субъекту одним и тем же или разными путями.

### **Введение и лечение**

Фармацевтические композиции по настоящему изобретению полезны для лечения или профилактики C5-ассоциированного заболевания и/или для улучшения по меньшей мере одного признака или симптома, связанного с таким C5-ассоциированным заболеванием.

Термин “C5-ассоциированное заболевание” относится к заболеванию, расстройству, состоянию или синдрому, которое вызвано, поддерживается или усугубляется, или признаки и/или симптомы которого прямо или косвенно вызваны, поддерживаются или усугубляются активностью системы комплемента, при этом активность системы комплемента может быть снижена, стабилизирована или устранена путем ингибирования активности C5. Такую активность C5 можно ингибировать, предотвращая, например, расщепление предшественника C5 на C5a и C5b цепи и/или образование мембраноатакующего комплекса (MAC).

Лечение C5-ассоциированного заболевания относится к уменьшению, стабилизации или устранению заболевания и/или одного или более его признаков и/или симптомов.

Субъективным свидетельством заболевания, расстройства, состояния или синдрома является симптом. Признак является объективным свидетельством заболевания, расстройства, состояния или синдрома. Например, кровь, вытекающая из ноздри, является признаком, поскольку она очевидна для пациента, врача и других лиц. Беспокойство, боль в пояснице и утомляемость являются симптомами, поскольку их может воспринимать только пациент.

Термин “субъект” включает млекопитающего, такого как человек, мышь, коза, кролик, крыса, собака, не являющийся человеком примат или обезьяна. В варианте осуществления изобретения аминокислота Аргинин 885 мутирована в C5 субъекта в другую аминокислоту, например R885H или R885C.

Фармацевтические композиции по настоящему изобретению полезны для лечения или профилактики C5-ассоциированного заболевания, которое представляет собой одно или более из:

- респираторного дистресс-синдрома взрослых
- возрастной макулярной дегенерации (AMD)

- аллергии
- синдрома Альпорта
- болезни Альцгеймера
- антифосфолипидного синдрома (APS)
- астмы
- атеросклероза
- атипичного гемолитико-уремического синдрома (aHUS)
- аутоиммунного заболевания
- аутоиммунной гемолитической анемии (АИНА)
- баллонной ангиопластики
- бронхоспазма
- буллезного пемфигоида
- ожогов
- С3 гломерулопатии
- синдрома повышенной проницаемости капилляров
- сердечно-сосудистых заболеваний
- катастрофического антифосфолипидного синдрома (CAPS)
- цереброваскулярного заболевания
- болезни CHAPLE (дефицит CD55 с гиперактивацией комплемента, ангиопатический тромбоз и энтеропатия с потерей белка)
  - химического повреждения
  - хронической обструктивной болезни легких (COPD)
  - болезни холодových агглютининов (CAD)
  - ткани роговицы и/или сетчатки
  - болезни Крона
  - болезни Дегоса
  - болезни плотных депозитов (DDD)
  - дерматомиозита
  - диабета
  - диабетической ангиопатии
  - диабетического макулярного отека (DME)
  - диабетической нефропатии
  - диабетической ретинопатии
  - дилатационной кардиомиопатии
  - расстройств несоответствующей или нежелательной активации комплемента
  - одышки
  - эмфиземы
  - буллезного эпидермолиза
  - эпилепсии
  - фиброгенной пылевой болезни

- обморожения
- географической атрофии (GA)
- гломерулонефрита
- гломерулопатии
- синдрома Гудпасчера
- болезни Грейвса
- синдрома Гийена-Барре
- тиреоидита Хашимото
- осложнений при гемодиализе
- синдрома гемолиза-повышенного уровня ферментов печени-низкого уровня

тромбоцитов (HELLP)

- гемолитической анемии
- гемофтиза
- пурпуры Шенлейна-Геноха
- наследственного ангионевротического отека
- сверхострого отторжения аллотрансплантата
- гиперчувствительного пневмонита;
- идиопатической тромбоцитопенической пурпуры (ИТП)
- IgA-нефропатии
- расстройств иммунного комплекса
- иммунокомплексного васкулита
- воспаления, связанного с иммунным комплексом
- инфекционного заболевания
- воспаления, вызванного аутоиммунным заболеванием
- воспалительного заболевания
- наследственной недостаточности CD59
- повреждений, вызванных инертной пылью и/или минералами
- интерлейкин-2-индуцированной токсичности во время ИЛ-2 терапии
- ишемически-реперфузионного повреждения
- болезни Kawasaki
- заболевания или повреждения легких
- волчаночного нефрита
- мембранопролиферативного гломерулонефрита
- мембранопролиферативного нефрита
- реперфузии брыжеечной артерии после реконструкции аорты
- мезентериального/энтерального сосудистого расстройства
- мультифокальной моторной нейропатии (MMN)
- рассеянного склероза
- тяжелой миастении
- инфаркта миокарда

- миокардита
- неврологического расстройства
- оптиконевромиелита
- ожирения
- глазного ангиогенеза
- глазной неоваскуляризации, поражающей хориоидею
- болезни, вызванной органической пылью
- паразитарного заболевания
- болезни Паркинсона
- пароксизмальной ночной гемоглобинурии (PNH)
- пауци-иммунного васкулита
- пузырчатки
- чрескожной транслюминальной коронарной ангиопластики (PTCA)
- расстройства периферических (например, скелетно-мышечных) сосудов
- пневмонии
- состояния постишемической реперфузии
- постгемодиализного синдрома при искусственном кровообращении
- постгемодиализного синдрома при почечном шунтировании
- прогрессирующей почечной недостаточности
- пролиферативного нефрита
- протеинурического заболевания почек
- псориаза
- легочной эмболии
- легочного фиброза
- инфаркта легкого
- легочного васкулита
- рецидивирующей потери плода
- заболевания почек
- почечной ишемии
- почечного ишемически-реперфузионного повреждения
- реноваскулярного расстройства
- рестеноза после установки стента
- ревматоидного артрита (RA)
- ротационной атерэктомии
- шизофрении
- сепсиса
- септического шока
- волчаночного нефрита
- поражения дымом
- повреждения спинного мозга

- спонтанной потери плода
- инсульта
- системной воспалительной реакции на сепсис
- системной красной волчанки (SLE)
- васкулита, ассоциированного с системной красной волчанкой
- болезни Такааясу
- термической травмы
- тромботической тромбоцитопенической пурпуры (ТТП)
- черепно-мозговой травмы
- диабета I типа
- типичного гемолитико-уремического синдрома (tHUS)
- увеита
- васкулита
- васкулита, ассоциированного с ревматоидным артритом
- венозной газовой эмболии (VGE); и/или
- отторжения ксенотрансплантата

Таким образом, настоящее изобретение включает способы лечения или профилактики C5-ассоциированного заболевания (например, PNH, aHUS или CHAPLE) у нуждающегося в этом субъекта, например у субъекта, подверженного C5-ассоциированному заболеванию, включающие введение субъекту терапевтически эффективного количества фармацевтической композиции по настоящему изобретению, которая включает анти-C5 антигенсвязывающий белок (например, H2M11683N; H2M11686N; H4H12159P; H4H12161P; H4H12163P; H4H12164P; H4H12166P; H4H12166P2; H4H12166P3; H4H12166P4; H4H12166P5; H4H12166P6; H4H12166P7; H4H12166P8; H4H12166P9; H4H12166P10; H4H12167P; H4H12168P; H4H12169P; H4H12170P; H4H12171P; H4H12175P; H4H12176P2; H4H12177P2; H4H12183P2; H2M11682N; H2M11684N; H2M11694N; H2M11695N; равулизумаб, кровалимаб или экулизумаб), необязательно в сочетании с дополнительным терапевтическим средством (например, цемдисирамом). В варианте осуществления изобретения субъект ранее получал другой анти-C5 антигенсвязывающий белок, например, равулизумаб, кровалимаб или экулизумаб.

Пароксизмальная ночная гемоглобинурия (PNH) представляет собой редкое приобретенное опасное для жизни заболевание крови. Заболевание характеризуется разрушением эритроцитов (гемолитическая анемия), сгустки крови (тромбоз) и нарушением функции костного мозга (недостаточное образование трех компонентов крови). Признаки и симптомы PNH могут включать значительную утомляемость или слабость, синяки или легкое кровотечение, одышку, рецидивирующие инфекции и/или гриппоподобные симптомы, трудности с остановкой кровотечения даже из очень незначительных ран, появление маленьких красных точек на коже, указывающее на кровотечение под кожей, сильную головную боль, лихорадку из-за инфекции и сгустков

крови (тромбоз). Таким образом, настоящее изобретение обеспечивает способ лечения или профилактики PNH у нуждающегося в этом субъекта, включающий введение субъекту терапевтически эффективного количества анти-C5 антигенсвязывающего белка (например, H2M11683N; H2M11686N; H4H12159P; H4H12161P; H4H12163P; H4H12164P; H4H12166P; H4H12166P2; H4H12166P3; H4H12166P4; H4H12166P5; H4H12166P6; H4H12166P7; H4H12166P8; H4H12166P9; H4H12166P10; H4H12167P; H4H12168P; H4H12169P; H4H12170P; H4H12171P; H4H12175P; H4H12176P2; H4H12177P2; H4H12183P2; H2M11682N; H2M11684N; H2M11694N; H2M11695N; равулизумаба, кровалимаба или экулизумаба) в фармацевтической композиции по настоящему изобретению. Настоящее изобретение включает способ уменьшения, стабилизации и/или устранения одного или более признаков и/или симптомов PNH (например, гемолитической анемии) у субъекта, страдающего PNH и имеющего указанные признаки и/или симптомы, включающий введение субъекту терапевтически эффективного количества фармацевтической композиции по настоящему изобретению, включающей анти-C5 антигенсвязывающий белок.

Атипичный гемолитико-уремический синдром (aHUS) представляет собой редкое заболевание, характеризующееся низким уровнем циркулирующих эритроцитов из-за их разрушения (гемолитическая анемия), низким количеством тромбоцитов (тромбоцитопения) из-за их потребления, и неспособностью почек перерабатывать продукты жизнедеятельности из крови и выделять их с мочой (острая почечная недостаточность), состоянием, известным как уремия. Признаки и симптомы aHUS могут включать, например, недомогание, утомляемость, раздражительность и вялость, анемию, тромбоцитопению, острую почечную недостаточность, гипертонию и поражение органов. Таким образом, настоящее изобретение обеспечивает способ лечения или профилактики aHUS у нуждающегося в этом субъекта, включающий введение субъекту терапевтически эффективного количества анти-C5 антигенсвязывающего белка (например, H2M11683N; H2M11686N; H4H12159P; H4H12161P; H4H12163P; H4H12164P; H4H12166P; H4H12166P2; H4H12166P3; H4H12166P4; H4H12166P5; H4H12166P6; H4H12166P7; H4H12166P8; H4H12166P9; H4H12166P10; H4H12167P; H4H12168P; H4H12169P; H4H12170P; H4H12171P; H4H12175P; H4H12176P2; H4H12177P2; H4H12183P2; H2M11682N; H2M11684N; H2M11694N; H2M11695N; равулизумаба, кровалимаба или экулизумаба) в фармацевтической композиции по настоящему изобретению. Настоящее изобретение включает способ уменьшения, стабилизации и/или устранения одного или более признаков и/или симптомов aHUS (например, гемолитической анемии) у субъекта, страдающего от aHUS и имеющего указанные признаки и/или симптомы, включающий введение субъекту терапевтически эффективного количества фармацевтической композиции по настоящему изобретению, включающей анти-C5 антигенсвязывающий белок.

Болезнь SHAPLE представляет собой аутосомно-рецессивное заболевание, вызванное мутациями с потерей функции в CD55 (также известно как фактор ускорения

распада, DAF). Признаки и симптомы SHAPLE могут включать гипопроотеинемию (низкий уровень альбумина и иммуноглобулинов в сыворотке) - гипопроотеинемия приводит к отеку лица и конечностей и рецидивирующим инфекциям, синдрому мальабсорбции (хроническая диарея, задержка развития, анемия и дефицит микронутриентов), гиперактивации комплемента, кишечной лимфангиэктазии (IL) и воспалению кишечника; и/или повышенную восприимчивость к висцеральному тромбозу. Таким образом, настоящее изобретение обеспечивает способ лечения или профилактики болезни SHAPLE у нуждающегося в этом субъекта, включающий введение субъекту терапевтически эффективного количества анти-C5 антигенсвязывающего белка (например, H2M11683N; H2M11686N; H4H12159P; H4H12161P; H4H12163P; H4H12164P; H4H12166P; H4H12166P2; H4H12166P3; H4H12166P4; H4H12166P5; H4H12166P6; H4H12166P7; H4H12166P8; H4H12166P9; H4H12166P10; H4H12167P; H4H12168P; H4H12169P; H4H12170P; H4H12171P; H4H12175P; H4H12176P2; H4H12177P2; H4H12183P2; H2M11682N; H2M11684N; H2M11694N; H2M11695N; равулизумаба, кровалимаба или экулизумаба) в фармацевтической композиции по настоящему изобретению. Настоящее изобретение включает способ уменьшения, стабилизации и/или устранения одного или более признаков и/или симптомов SHAPLE (например, гипопроотеинемии) у субъекта, страдающего от SHAPLE и имеющего указанные признаки и/или симптомы, включающий введение субъекту терапевтически эффективного количества фармацевтической композиции по настоящему изобретению, включающей анти-C5 антигенсвязывающий белок.

Антифосфолипидный синдром (APS) представляет собой аутоиммунное заболевание, характеризующееся артериальным и венозным тромбозом из-за антифосфолипидных антител. Заболевание называют первичным, когда оно возникает при отсутствии другого аутоиммунного заболевания. Вторичный APS возникает в контексте аутоиммунного заболевания, такого как системная красная волчанка. Катастрофический APS (CAPS) представляет собой редкую опасную для жизни форму APS, при которой распространенный внутрисосудистый тромбоз приводит к полиорганной ишемии и недостаточности. Таким образом, настоящее изобретение обеспечивает способ лечения или профилактики APS (например, первичного или вторичного или CAPS) у нуждающегося в этом субъекта, включающий введение субъекту терапевтически эффективного количества анти-C5 антигенсвязывающего белка (например, H2M11683N; H2M11686N; H4H12159P; H4H12161P; H4H12163P; H4H12164P; H4H12166P; H4H12166P2; H4H12166P3; H4H12166P4; H4H12166P5; H4H12166P6; H4H12166P7; H4H12166P8; H4H12166P9; H4H12166P10; H4H12167P; H4H12168P; H4H12169P; H4H12170P; H4H12171P; H4H12175P; H4H12176P2; H4H12177P2; H4H12183P2; H2M11682N; H2M11684N; H2M11694N; H2M11695N; равулизумаба, кровалимаба или экулизумаба) в фармацевтической композиции по настоящему изобретению. Настоящее изобретение включает способ уменьшения, стабилизации и/или устранения одного или более признаков и/или симптомов APS (например, первичного, вторичного или CAPS) у

субъекта, страдающего от APS и имеющего указанные признаки и/или симптомы, включающий введение субъекту терапевтически эффективного количества фармацевтической композиции по настоящему изобретению, включающей анти-C5 антигенсвязывающий белок.

Тяжелая миастения (MG) представляет собой хроническое аутоиммунное нервно-мышечное заболевание, вызывающее слабость скелетных мышц, отвечающих за дыхание и подвижность частей тела, включая руки и ноги. Таким образом, настоящее изобретение обеспечивает способ лечения или профилактики тяжелой миастении у нуждающегося в этом субъекта, включающий введение субъекту терапевтически эффективного количества анти-C5 антигенсвязывающего белка (например, H2M11683N; H2M11686N; H4H12159P; H4H12161P; H4H12163P; H4H12164P; H4H12166P; H4H12166P2; H4H12166P3; H4H12166P4; H4H12166P5; H4H12166P6; H4H12166P7; H4H12166P8; H4H12166P9; H4H12166P10; H4H12167P; H4H12168P; H4H12169P; H4H12170P; H4H12171P; H4H12175P; H4H12176P2; H4H12177P2; H4H12183P2; H2M11682N; H2M11684N; H2M11694N; H2M11695N; равулизумаба, кровалимаба или экулизумаба) в фармацевтической композиции по настоящему изобретению. Настоящее изобретение включает способ уменьшения, стабилизации и/или устранения одного или более признаков и/или симптомов MG у субъекта, страдающего от MG и имеющего указанные признаки и/или симптомы, включающий введение субъекту терапевтически эффективного количества фармацевтической композиции по настоящему изобретению, включающей анти-C5 антигенсвязывающий белок.

Типичный гемолитико-уремический синдром (tHUS) может следовать за желудочно-кишечной инфекцией, вызванной шига-токсин-продуцирующей *Escherichia coli* (STEC). Типичный HUS (STEC-HUS; шига-токсин-продуцирующая *Escherichia coli* (STEC)- гемолитико-уремический синдром (HUS)) может быть инициирован, когда шига-токсин (или шига-подобный токсин), известный сильный цитотоксин, связывается с гликолипидом Gb3 клеточной мембраны (через домен В). Домен А интернализуется и впоследствии останавливает синтез белка и вызывает апоптоз пораженной клетки. Шига-токсин оказывает несколько дополнительных эффектов на эндотелиальные клетки, одним из которых является усиление экспрессии функционального тканевого фактора, что может способствовать тромбозу микрососудов. Токсин вызывает повреждение или активацию эндотелия, эритроцитов и тромбоцитов. Таким образом, настоящее изобретение обеспечивает способ лечения или профилактики tHUS у нуждающегося в этом субъекта, включающий введение субъекту терапевтически эффективного количества анти-C5 антигенсвязывающего белка (например, H2M11683N; H2M11686N; H4H12159P; H4H12161P; H4H12163P; H4H12164P; H4H12166P; H4H12166P2; H4H12166P3; H4H12166P4; H4H12166P5; H4H12166P6; H4H12166P7; H4H12166P8; H4H12166P9; H4H12166P10; H4H12167P; H4H12168P; H4H12169P; H4H12170P; H4H12171P; H4H12175P; H4H12176P2; H4H12177P2; H4H12183P2; H2M11682N; H2M11684N; H2M11694N; H2M11695N; равулизумаба, кровалимаба или экулизумаба) в

фармацевтической композиции по настоящему изобретению. Настоящее изобретение включает способ уменьшения, стабилизации и/или устранения одного или более признаков и/или симптомов tHUS у субъекта, страдающего от tHUS и имеющего указанные признаки и/или симптомы, включающий введение субъекту терапевтически эффективного количества фармацевтической композиции по настоящему изобретению, включающей анти-C5 антигенсвязывающий белок.

Настоящее изобретение также включает способ переключения терапевтических схем для лечения или профилактики C5-ассоциированного заболевания, включающий прекращение введения первой такой терапевтической схемы и введение субъекту терапевтически эффективного количества анти-C5 антигенсвязывающего белка, выбранного из H2M11683N; H2M11686N; H4H12159P; H4H12161P; H4H12163P; H4H12164P; H4H12166P; H4H12166P2; H4H12166P3; H4H12166P4; H4H12166P5; H4H12166P6; H4H12166P7; H4H12166P8; H4H12166P9; H4H12166P10; H4H12167P; H4H12168P; H4H12169P; H4H12170P; H4H12171P; H4H12175P; H4H12176P2; H4H12177P2; H4H12183P2; H2M11682N; H2M11684N; H2M11694N; и H2M11695N, в фармацевтической композиции по настоящему изобретению.

Некоторые стандартные методы лечения C5-ассоциированного заболевания обременительны и представляют значительную опасность из-за осложнений. Настоящее изобретение также относится к способам, позволяющим избежать такого стандартного лечения и его осложнений путем лечения первопричины C5-ассоциированного заболевания (например, PNH или aHUS) фармацевтической композицией по настоящему изобретению, как указано в настоящей заявке. Например, указанные стандартные методы лечения включают переливание крови, трансплантацию костного мозга (ВМТ), трансплантацию почки, гемодиализ и/или баллонную ангиопластику.

Осложнения переливания крови включают, например, аллергическую реакцию, лихорадку, острую иммунную гемолитическую реакцию и инфекцию, передающуюся через кровь (например, вирус иммунодефицита человека (ВИЧ), гепатит С, гепатит В и/или вирус Западного Нила). Таким образом, настоящее изобретение включает способ предотвращения переливания крови и/или одного или более осложнений переливания крови (например, аллергической реакции, лихорадки, острой иммунной гемолитической реакции и инфекции, передающейся через кровь) у субъекта с C5-ассоциированным заболеванием (например, PNH или aHUS) путем лечения первопричины C5-ассоциированного заболевания (например, PNH или aHUS) с использованием фармацевтической композиции по настоящему изобретению, описанной в настоящей заявке, где лечение включает введение субъекту терапевтически эффективного количества анти-C5 антигенсвязывающего белка в фармацевтической композиции по настоящему изобретению.

Осложнения трансплантации костного мозга включают, например, реакцию трансплантат-против-хозяина, отказ стволовых клеток (трансплантата), повреждение органов, инфекцию, катаракту, бесплодие и смерть. Таким образом, настоящее

изобретение включает способ предотвращения трансплантации костного мозга и/или одного или более осложнений трансплантации костного мозга (например, реакции трансплантат-против-хозяина, отказа стволовых клеток (трансплантата), повреждения органов, инфекции, катаракты, бесплодия и смерти) у субъекта с C5-ассоциированным заболеванием (например, PNH или aHUS) путем лечения первопричины C5-ассоциированного заболевания (например, PNH или aHUS) с использованием фармацевтической композиции по настоящему изобретению, описанной в настоящей заявке, где лечение включает введение субъекту терапевтически эффективного количества анти-C5 антигенсвязывающего белка в фармацевтической композиции по настоящему изобретению.

Осложнения гемодиализа включают, например, инфекцию, сепсис, гипотензию, мышечные спазмы, зуд, нарушение сна, апноэ во сне, анемию, гипертензию, перегрузку жидкостью, перикардит, гиперкалиемию, амилоидоз или депрессию. Таким образом, настоящее изобретение включает способ предотвращения гемодиализа и/или одного или более осложнений гемодиализа (например, инфекции, сепсиса, гипотензии, мышечных спазмов, зуда, нарушения сна, апноэ во сне, анемии, гипертензии, перегрузки жидкостью, перикардита, гиперкалиемии, амилоидоза или депрессии) у субъекта с C5-ассоциированным заболеванием (например, PNH или aHUS) путем лечения первопричины C5-ассоциированного заболевания (например, PNH или aHUS) с использованием фармацевтической композиции по настоящему изобретению, описанной в настоящей заявке, где лечение включает введение субъекту терапевтически эффективного количества анти-C5 антигенсвязывающего белка в фармацевтической композиции по настоящему изобретению.

Осложнения почечного трансплантата включают, например, образование тромбов, кровотечение, подтекание или непроходимость мочеточника, инфекцию, почечную недостаточность, отторжение почки, смерть, сердечный приступ и инсульт. Таким образом, настоящее изобретение включает способ предотвращения почечного трансплантата и/или одного или более осложнений почечного трансплантата (например, образования тромбов, кровотечения, подтекания или непроходимости мочеточника, инфекции, почечной недостаточности, отторжения почки, смерти, сердечного приступа и инсульта) у субъекта с C5-ассоциированным заболеванием (например, PNH или aHUS) путем лечения первопричины C5-ассоциированного заболевания (например, PNH или aHUS) с использованием фармацевтической композиции по настоящему изобретению, описанной в настоящей заявке, где лечение включает введение субъекту терапевтически эффективного количества анти-C5 антигенсвязывающего белка в фармацевтической композиции по настоящему изобретению.

Фармацевтические композиции по настоящему изобретению можно использовать для лечения или профилактики C5-ассоциированного заболевания, такого как C5-ассоциированное офтальмологическое заболевание, например, возрастная макулярная дегенерация (AMD; например, влажная или сухая), диабетическая ретинопатия (DR),

неинфекционный увеит, географическая атрофия, макулярная дистрофия Штаргардта или неврит зрительного нерва.

AMD представляет собой прогрессирующую дегенерацию желтого пятна (центральной части сетчатки), как правило, у людей в возрасте старше 55 лет. Различные компоненты комплемента, включая C3, C5b-9, CFB и CFH, были обнаружены в друзах, а также в поражениях AMD. Кроме того, у пациентов с AMD наблюдали повышенные уровни C3a, C3d, Bb и C5a в плазме. Эти результаты свидетельствуют о повышенной локальной и системной активации комплемента при AMD.

DR представляет собой прогрессирующую дегенерацию сосудов и нейронов сетчатки в результате диабета. Хориокапилляры DR глаз содержат значительные уровни C3d и комплекса C5b-9. Отложение C5b-9 также может быть обнаружено в сосудах сетчатки у пациентов с диабетом 2 типа >9 лет, а повышенный уровень C5a может быть обнаружен в стекловидном теле пациентов с пролиферативной DR, позволяя предположить, что активация комплемента участвует в повреждении сосудов сетчатки при DR.

Неинфекционный увеит представляет собой воспаление - жар, покраснение, боль и отек - в одном или обоих глазах, которое не связано с инфекцией.

Географическая атрофия (GA) представляет собой хроническую прогрессирующую дегенерацию желтого пятна как часть поздней стадии возрастной макулярной дегенерации (AMD). Заболевание характеризуется локализованной резко отграниченной атрофией наружной ткани сетчатки, пигментного эпителия сетчатки и хориокапилляров. Обычно оно начинается в перифовеальной области и со временем распространяется на центральную ямку, что приводит к центральным скотомам и необратимой потере остроты зрения. В большинстве случаев оно двустороннее.

Аутосомно-рецессивная макулярная дистрофия Штаргардта (STGD1) представляет собой дистрофию, возникающую в результате мутаций в гене ABCA4 (ABCR). Мутации в ABCA4 также приводят к дистрофии колбочек. Возраст начала ювенильного и раннего взрослого STGD1 обычно составляет 8-25 лет, при этом некоторые случаи возникают у пожилых людей (позднее начало взрослого STGD1). Отличительной чертой заболевания является преждевременное накопление липофусцина (коричнево-желтого аутофлуоресцентного пигмента, связанного со старением) в пигментном эпителии сетчатки (RPE) глаза, что приводит к образованию желтоватых пятен, которые выходят наружу из макулы.

Неврит зрительного нерва представляет собой воспаление, которое повреждает зрительный нерв. Боль и временная потеря зрения в одном глазу являются распространенными симптомами неврита зрительного нерва.

Таким образом, настоящее изобретение включает способ лечения или профилактики C5-ассоциированного офтальмологического заболевания, например возрастной макулярной дегенерации (AMD; например, влажной или сухой), диабетической ретинопатии (DR), неинфекционного увеита, географической атрофии,

макулярной дистрофии Штаргардта или неврита зрительного нерва, у нуждающегося в этом субъекта, включающий введение субъекту, терапевтически эффективного количества анти-C5 антигенсвязывающего белка в фармацевтической композиции по настоящему изобретению, например, путем внутриглазной или интравитреальной инъекции.

Анти-C5 антигенсвязывающие белки по настоящему изобретению также снижают активность комплемента (например, C5-опосредованную активность комплемента) в организме субъекта. Например, в варианте осуществления изобретения активность комплемента представляет собой комплемент-опосредованный гемолиз (например, опосредованный классическим путем или опосредованный альтернативным путем) или активность C5 (например, связывание C5a с C5aR1, образование C5a и/или C5b из предшественника C5; или образование или отложение мембраноатакующего комплекса (MAC) в клетках, например эндотелиальных клетках). В варианте осуществления изобретения активность комплемента представляет собой способность сыворотки, взятой из организма субъекта, лизировать овечьи эритроциты, покрытые антиовечьими антителами. Таким образом, настоящее изобретение обеспечивает способ снижения активности комплемента в организме субъекта, включающий введение субъекту анти-C5 антигенсвязывающего белка, например его терапевтически эффективного количества, (например, H2M11683N; H2M11686N; H4H12159P; H4H12161P; H4H12163P; H4H12164P; H4H12166P; H4H12166P2; H4H12166P3; H4H12166P4; H4H12166P5; H4H12166P6; H4H12166P7; H4H12166P8; H4H12166P9; H4H12166P10; H4H12167P; H4H12168P; H4H12169P; H4H12170P; H4H12171P; H4H12175P; H4H12176P2; H4H12177P2; H4H12183P2; H2M11682N; H2M11684N; H2M11694N; H2M11695N; равулизумаба, кровалимаба или экулизумаба) в фармацевтической композиции по настоящему изобретению.

В некоторых вариантах осуществления терапевтически эффективное количество анти-C5 антигенсвязывающего белка в фармацевтической композиции по настоящему изобретению вводят субъекту с C5-ассоциированным заболеванием. Терапевтически эффективное количество анти-C5 антигенсвязывающего белка в фармацевтической композиции по настоящему изобретению может варьироваться в зависимости от возраста и размера субъекта, которому вводят, целевого заболевания, состояния, пути введения и т.п. В варианте осуществления изобретения терапевтически эффективное количество анти-C5 антигенсвязывающего белка в фармацевтической композиции по настоящему изобретению составляет от около 0,1 до около 100 мг/кг массы тела, от около 5 до около 80, от около 10 до около 70 или от около 20 до около 50 мг/кг массы тела (например, в виде его разовой или дробных доз). В варианте осуществления изобретения терапевтически эффективное количество анти-C5 антигенсвязывающего белка в фармацевтической композиции по настоящему изобретению составляет от около 0,1 мг до около 1000 мг, от около 1 до около 600 мг, от около 5 до около 500 мг или от около 10 до около 400 мг. В зависимости от тяжести состояния можно корректировать частоту и продолжительность лечения. В некоторых вариантах осуществления за начальной дозой

может следовать введение второй или множества последующих доз антигенсвязывающего белка в количестве, которое может быть примерно таким же или меньшим, чем исходная доза, при этом последующие дозы вводят с интервалом, составляющим по меньшей мере 1-3 дня; по меньшей мере одну неделя, по меньшей мере 2 недели; по меньшей мере 3 недели или по меньшей мере 4 недели.

В варианте осуществления изобретения терапевтически эффективное количество анти-С5 антигенсвязывающего белка (например, позелимаба) в фармацевтической композиции по настоящему изобретению составляет около 30 мг/кг массы тела, которое вводят внутривенно (в/в) один или более раз; необязательно дополнительно включая одну или более доз композиции, вводимых подкожно.

В варианте осуществления изобретения терапевтически эффективное количество дополнительного терапевтического средства, которое представляет собой РНКи (например, цемдисирам), составляет от около 0,001 до около 200,0 мг на килограмм массы тела реципиента в день, обычно в диапазоне от около 1 до 50 мг на килограмм массы тела в день. Например, терапевтически эффективное количество РНКи, например дцРНК (например, цемдисирам), составляет около 0,01 мг/кг, около 0,05 мг/кг, около 0,5 мг/кг, около 1 мг/кг, около 1,5 мг/кг, около 2 мг/кг, около 3 мг/кг, около 10 мг/кг, около 20 мг/кг, около 30 мг/кг, около 40 мг/кг или около 50 мг/кг на однократную дозу.

В другом варианте осуществления настоящего изобретения дополнительное терапевтическое средство вводят субъекту в сочетании с фармацевтической композицией по настоящему изобретению. В варианте осуществления изобретения дополнительное терапевтическое средство вводят в дозе в соответствии с Physicians' Desk Reference 2003 (Thomson Healthcare; 57<sup>th</sup> edition (Nov. 1, 2002)).

Настоящее изобретение дополнительно обеспечивает способы введения субъекту фармацевтической композиции по настоящему изобретению, включающей анти-С5 антигенсвязывающий белок, например H2M11683N; H2M11686N; H4H12159P; H4H12161P; H4H12163P; H4H12164P; H4H12166P; H4H12166P2; H4H12166P3; H4H12166P4; H4H12166P5; H4H12166P6; H4H12166P7; H4H12166P8; H4H12166P9; H4H12166P10; H4H12167P; H4H12168P; H4H12169P; H4H12170P; H4H12171P; H4H12175P; H4H12176P2; H4H12177P2; H4H12183P2; H2M11682N; H2M11684N; H2M11694N; H2M11695N; равулизумаб, кровалимаб или экулизумаб, включающие введение фармацевтической композиции в организм субъекта (например, человека), например, парентерально. Например, способ включает прокалывание тела субъекта иглой шприца и введение фармацевтической композиции в тело субъекта, например, в вену, артерию, глаз, мышечную ткань или подкожный слой субъекта.

Способ введения фармацевтической композиции по настоящему изобретению может варьироваться. Пути введения включают парентеральный, непарентеральный, пероральный, ректальный, трансмукозальный, интестинальный, парентеральный; внутримышечный, подкожный, внутрикожный, интрамедуллярный, интратекальный, прямой интравентрикулярный, внутривенный, внутрибрюшинный, интраназальный,

внутриглазной, путем ингаляции, инсуффляции, местный, кожный, внутриглазной, интравитреальный, чрескожный или интраартериальный.

### **Внутривенное введение**

Анти-С5 антигенсвязывающие белки, обсуждаемые в настоящей заявке (например, H2M11683N; H2M11686N; H4H12159P; H4H12161P; H4H12163P; H4H12164P; H4H12166P; H4H12166P2; H4H12166P3; H4H12166P4; H4H12166P5; H4H12166P6; H4H12166P7; H4H12166P8; H4H12166P9; H4H12166P10; H4H12167P; H4H12168P; H4H12169P; H4H12170P; H4H12171P; H4H12175P; H4H12176P2; H4H12177P2; H4H12183P2; H2M11682N; H2M11684N; H2M11694N; H2M11695N; равулизумаб, кровалимаб или экулизумаб), можно вводить субъекту внутривенным (в/в) путем. Настоящее изобретение, таким образом, включает внутривенные композиции, которые включают водный раствор для внутривенного введения (например, NS) и фармацевтическую композицию, описанную в настоящей заявке. Внутривенную композицию можно получить путем добавления фармацевтической композиции, которая описана в настоящей заявке (например, около 200 мг/мл позелимаба;  $20 \pm 4$  mM гистидинового буфера;  $100 \pm 20$  mM L-аргинина;  $2 \pm 0,4\%$  (масс/об) сахарозы;  $0,15 \pm 0,075\%$  (масс/об) полисорбата-80; и вода, pH  $5,8 \pm 0,3$ ) к водному раствору для внутривенного введения (например, NS). Фармацевтическую композицию можно добавить к водному раствору для внутривенного введения, например путем инъекции через отверстие для подачи лекарства в контейнере, содержащем раствор (например, пакете). Полученную внутривенную композицию затем можно вводить субъекту. Внутривенные композиции, полученные таким способом, составляют часть настоящего изобретения вместе с изложенными в настоящей заявке способами их применения.

Водный раствор для внутривенного введения, в который можно вводить фармацевтическую композицию для получения внутривенной композиции, включает, например, 0,9% физиологический раствор (NS, 0,9NaCl или NSS), лактат Рингера (LR, Ringers Lactate или RL), 5% раствор декстрозы в воде (D5 или D5W, раствор сахара для внутривенного введения); 0,45% физиологический раствор (полунормальный физиологический раствор, 0,45NaCl, 45NS); 0,33% NaCl; 0,225% NaCl; 2,5% раствор декстрозы в воде (D<sub>2,5</sub>W); 3% NaCl; 5% NaCl; 5% раствор декстрозы в 0,45% NaCl (D<sub>5</sub> ½ NS); 5% раствор декстрозы и 0,45% NaCl; 5% раствор декстрозы в 0,9% NaCl (D<sub>5</sub>NS); 5% раствор декстрозы в лактате Рингера (D<sub>5</sub>LR); LR, который содержит 0,6% NaCl; 10% раствор декстрозы в воде (D<sub>10</sub>W); 20% раствор декстрозы в воде (D<sub>20</sub>W); или 50% раствор декстрозы в воде (D<sub>50</sub>W). Эти растворы хорошо известны в данной области техники и являются коммерчески доступными.

Сосуды и другие устройства (например, стерильная пластиковая или стеклянная бутылка для внутривенного введения или пластиковый пакет для внутривенного введения), включающие такие внутривенные композиции, также являются частью настоящего изобретения.

Внутривенные композиции можно вводить в вены субъекта любым из нескольких

способов, известных в данной области. Например, внутривенную композицию можно вводить через периферический внутривенный (PIV) катетер или центральный в/в катетер. PIV вводит внутривенную композицию в периферические вены (как правило, вены на руках, кистях, ногах и ступнях) субъекта. Центральные в/в катетеры продвигаются через вену и попадают в крупную центральную вену (вену внутри туловища), обычно в верхнюю полую вену, нижнюю полую вену или даже в правое предсердие сердца.

Таким образом, настоящее изобретение обеспечивает способ внутривенного введения субъекту внутривенной композиции по настоящему изобретению, которая включает фармацевтическую композицию, описанную в настоящей заявке (например, около 200 мг/мл позелимаба;  $20 \pm 4$  мМ гистидинового буфера;  $100 \pm 20$  мМ L-аргинина;  $2 \pm 0,4\%$  (масс/об) сахарозы;  $0,15 \pm 0,075\%$  (масс/об) полисорбата-80; и вода, pH  $5,8 \pm 0,3$ ) в водном растворе для внутривенного введения (например, NS), включающий введение внутривенной композиции в вену (например, периферическую вену) субъекта, например путем в/в инфузии (например, капельной инфузией или инфузией через насосную систему). Также представлены способы введения внутривенной композиции по настоящему изобретению, которые могут включать стадию добавления фармацевтической композиции, описанной в настоящей заявке (например, около 200 мг/мл позелимаба;  $20 \pm 4$  мМ гистидинового буфера;  $100 \pm 20$  мМ L-аргинина;  $2 \pm 0,4\%$  (масс/об) сахарозы;  $0,15 \pm 0,075\%$  (масс/об) полисорбата-80; и вода, pH  $5,8 \pm 0,3$ ), к водному раствору для внутривенного введения (например, NS) и введение полученной внутривенной композиции в вену субъекта, например путем в/в инфузии (например, капельной инфузией или инфузией через насосную систему). Такие способы необязательно включают дополнительное введение фармацевтической композиции другим путем, кроме внутривенного, например подкожно.

Настоящее изобретение включает способы лечения или профилактики C5-ассоциированного заболевания (например, PNH) у субъекта путем введения внутривенной композиции, включающие внутривенное введение анти-C5 антигенсвязывающего белка субъекту (например, одну или более в/в доз по 1, 3, 10, 15 или 30 мг/кг). Необязательно, способ дополнительно включает стадию введения фармацевтической композиции по настоящему изобретению субъекту другим путем, кроме внутривенного, например подкожно, т.е. где фармацевтическую композицию вводят без стадии формирования внутривенной композиции.

### **ПРИМЕРЫ**

Следующий пример предоставлен для дальнейшего описания настоящего изобретения и не должен рассматриваться как его ограничение. Объем настоящего изобретения включает любой из способов и фармацевтических композиций, которые описаны ниже в следующих примерах.

#### **Пример 1: Конформационная стабильность H4H12166P**

Температуры плавления ( $T_m$ ) H4H12166P определяли методом ТА-дифференциальной сканирующей калориметрии (DSC) и VP-DSC с использованием

параметров, указанных в Таблицах 1-1 и 1-2. Температуры плавления, которые были определены, приведены в Таблице 1-3. Кроме того, профили термического плавления Н4Н12166Р, определенные методом VP-DSC при 1 мг/мл и методом TA-DSC при 150 мг/мл и 200 мг/мл, показаны на Фиг. 1, Фиг. 2 и Фиг. 3, соответственно.

Таблица 1-1

## Параметры метода для VP-DSC\*

Параметр	Значение
Начальная температура	10°C
Время установления равновесия при начальной температуре	15 мин
Скорость сканирования	90°C в час (1,5°C в минуту)
Конечная температура	105°C

\* MicroCal VP-дифференциальный сканирующий калориметр

Таблица 1-2

## Параметры метода для TA-DSC\*

Стадия	Действие
1	Уравновешивание при 10°C
2	Модулирование +/- 0,5°C каждые 60 секунд
3	Изотермический в течение 5 минут
4	Линейное изменение 2°C в минуту до 102°C

\* Дифференциальный сканирующий калориметр TA Instruments

Таблица 1-3

## Температуры плавления Н4Н12166Р, определенные методом DSC

Способ	Композиция образца	T <sub>m1</sub> начало	T <sub>m1</sub>	T <sub>m2</sub>
VP-DSC	1 мг/мл Н4Н12166Р, 10 мМ гистидина, рН 5,5	52°C-55°C	62,4°C	75,9°C*
TA-DSC	150 мг/мл Н4Н12166Р, 10 мМ гистидина, рН 5,5	□55°C	□61°C (точно не определено)	68,5°C
TA-DSC	200 мг/мл Н4Н12166Р, 20 мМ гистидина, рН 5,8, 100 мМ аргинин-НСl, 2% (масс/об) сахарозы, 0,15% (масс/об) полисорбата 80	58,0°C	61,7°C	73,2°C

\* Подогнанная модель показала 3 перехода в VP-DSC профиле развертывания, и 75,9°C представляет собой T<sub>m</sub> 3-го пика, однако, поскольку второй пик не был хорошо разрешен, он не включен в таблицу, а 75,9°C обозначена как T<sub>m2</sub>.

Первый переход (T<sub>m1</sub>) на термограммах DSC, наблюдаемый при более низких температурах, скорее всего, представляет собой температурное развертывание СН<sub>2</sub> домена в F<sub>c</sub>-области, тогда как основной переход (большая эндотерма) происходит от доменов F<sub>ab</sub>-области. Значения T<sub>m1</sub>, определенные для всех образцов, одинаковы (61-62°C), хотя этот пик нечетко определялся на TA-DSC термограмме для 150 мг/мл Н4Н12166Р (Фиг. 2). Измеренное значение T<sub>m2</sub>, соответствующее основному переходу, на DSC термограмме 1 мг/мл Н4Н12166Р (~76°C) является более высоким по сравнению с температурами основного перехода в образце 150 (69°C) и 200 (73°C) мг/мл Н4Н12166Р. Эти различия между значениями T<sub>m</sub>, определенные методом VP-DSC и TA-DSC, могут

быть связаны с различиями в инструментарии и анализе данных, в дополнение к большой разнице в концентрации белка в соответствующих образцах. Немного более высокое значение  $T_{m2}$ , определенное для образца 200 мг/мл Н4Н12166Р по сравнению с образцом 150 мг/мл Н4Н12166Р может быть связано с (1) разницей в 0,3 рН единицы между двумя композициями, и (2) присутствием стабилизаторов композиции в образце 200 мг/мл Н4Н12166Р.

**Пример 2: Эффект рН, температуры и свободного пространства**

Температура, рН и свободное пространство в контейнере оценивали в исследовании План эксперимента (DoE) чтобы охарактеризовать пути разложения 150 мг/мл Н4Н12166Р. Была завершена оценка рисков. Факторы, используемые в этом исследовании, показаны в Таблице 2-1.

**Таблица 2-1**

**Контролируемые факторы и уровни/значения**

Факторы	Тип фактора	Значения		
		5,7	6,2	6,8
рН	Непрерывный	5,7	6,2	6,8
Температура (°C)	Непрерывный	25	37	45
Объем свободного воздушного пространства (мл)	Непрерывный	2	5,5	11,5

Результаты исследования, предназначенного для характеристики 150 мг/мл Н4Н12166Р в 20 мМ гистидинового буфера в диапазоне температур, рН и свободного пространства в контейнере показан на Фиг. 4. Влияние этих факторов на оцениваемые показатели качества Н4Н12166Р показано ниже:

- Температура и рН оказали наибольшее влияние на такие характеристики качества Н4Н12166Р, как размер молекулы и варианты заряда, рН и мутность.

- Образование вариантов молекулярного размера (НМW видов) и вариантов с кислотным зарядом увеличивалось с температурой с соответствующим уменьшением % главных пиков, определенных эксклюзионной СВЭЖХ и катионообменной СВЭЖХ, соответственно.

- Образование вариантов с основным зарядом прогрессивно увеличивалось с уменьшением рН при более высоких температурах.

- При более высоких температурах наблюдали большее увеличение рН раствора (до 0,15 единиц рН) после инкубации в течение 90 дней при рН 5,7 по сравнению с рН 6,7.

- Увеличение мутности измеряли при более высоких температуре и рН.

Переходные функции, полученные в результате анализа результатов DoE исследования, использовали для оценки скорости образования видов с разным молекулярным размером и вариантом заряда в 150 мг/мл Н4Н12166Р, 20 мМ гистидина, рН 5,8, при температуре от 25°C до 45°C (Таблица 2-2); эти скорости представлены на Фиг. 5 и Фиг. 6, соответственно, как функция температуры, в виде графиков,

представляющих скорости разложения при различных температурах. Эти результаты представлены ниже:

- Образование высокомолекулярных видов (HMW) и вариантов с кислотным зарядом являются доминирующими путями разложения в H4H12166P после термического стресса при
  - 37°C (скорость образования HMW=0,6% в месяц и кислотных видов=0,6% в месяц),
  - 40°C (скорость образования HMW=1,2% в месяц и кислотных видов=3,1% в месяц), и
  - 45°C (скорость образования HMW=2,6% в месяц и кислотных видов=8,8% в месяц).
- В этих условиях наблюдали минимальную фрагментацию (LMW виды) или образование вариантов с основным зарядом.
- При температурах выше 30°C скорость разложения (%HMW и кислотных видов) увеличивается почти линейно до 45°C.
- Скорость образования HMW при 30°C была ниже по сравнению с 25°C (Таблица 2-2), однако величина этой разницы (0,27%) меньше ошибки подбора модели (0,45%) и не является значимой.
- Наблюдали тенденцию к снижению скорости изменения видов с основным зарядом при повышении температуры (Фиг. 6), что может быть связано с их превращением в виды с кислотным вариантом заряда. Тем не менее, общее изменение (<1%) меньше, чем ошибка подбора модели (1,5%), поэтому изменения могут быть незначимыми в пределах параметров, оцениваемых в этом исследовании.

Таблица 2-2

**Скорость изменения видов с разным молекулярным размером и вариантом заряда при различных температурах в 150 мг/мл H4H12166P**

Показатель	Скорость @ 25°C (в месяц)	Скорость @ 30°C (в месяц)	Скорость @ 37°C (в месяц)	Скорость @ 40°C (в месяц)	Скорость @ 45°C (в месяц)
% HMW по данным SEC	0,3628	0,0906	0,6409	1,2095	2,6007
% Мономера по данным SEC	0,1556	0,1954	-0,5959	-1,2376	-2,7106
% LMW по данным SEC	-0,2783	-0,1732	-0,0754	-0,0512	-0,0344
% Кислотных видов по результатам SEC	-2,1582	-2,3911	0,6027	3,0715	8,7670
% Главных видов по данным SEC	1,2809	1,3268	-1,3923	-3,5518	-8,4764
% Основных видов по данным SEC	0,8740	1,0586	0,7841	0,4761	-0,2909

Обоснование включения свободного пространства в качестве одного из факторов в это исследование свойств препарата заключалось в оценке влияния различных количеств

кислорода свободного пространства на восприимчивость Н4Н12166Р к окислению метионина. Окисление метионина количественно оценивали методом пептидного картирования (ЖХ-МС), однако, поскольку этот метод не является высокопроизводительным, испытание осуществляли только на образце 150 мг/мл Н4Н12166Р, 20 мМ гистидина, рН 6,2, в 10-мл стеклянном флаконе (наибольшее свободное пространство) при  $t=0$  и 45°C на момент времени в 28 день, как наихудший сценарий. Результаты, приведенные в Таблице 2-3, показывают лишь очень небольшое увеличение (1,3%) окисления Met105, который находится в CDR Н4Н12166Р, в этих условиях инкубации. Другие Met остатки показали более низкие и незначительные изменения в окислении при термической инкубации. Свободное пространство в контейнере продемонстрировало минимальное влияние на другие отслеживаемые показатели качества в пределах оцениваемого диапазона (2,5 мл - 11,5 мл) (Фиг. 4). Более низкое извлечение белка (дельта концентрация белка), наблюдаемое при меньшем свободном пространстве, не является статистически значимым, как показывают большие доверительные интервалы и испытания для определения эффекта (Фиг. 4). Таким образом, окисление Н4Н12166Р из-за присутствия кислорода в свободном пространстве не считается путем разложения.

Таблица 2-3

**Окисление метионина, определенное пептидным картированием, в 150 мг/мл Н4Н12166Р в 20 мМ гистидина, рН 6,2, в 10-мл стеклянном флаконе (наибольшее свободное пространство) после термического стресса**

Условия инкубации	НС Met105 (CDR)	НС Met252	НС Met428	LC Met4
$t=0$	4,8	3,3	1,0	1,1
45°C 28 дней	6,1	4,1	1,2	1,1

**Пример 3: Эффект замораживания/оттаивания (F/T), перемешивания и принудительного окисления (добавка пероксида водорода)**

Восприимчивость 150 мг/мл Н4Н12166Р в 20 мМ гистидина, рН 6,2 к стрессу из-за замораживания/оттаивания, перемешивания и окисления (добавка  $H_2O_2$ ) оценивали с использованием однофакторного метода исследования. Условия инкубации/стресса, использованные для оценки стабильности Н4Н12166Р, показаны в Таблице 3-1. Концентрации пероксида водорода, оцениваемые в этом исследовании, показаны в Таблице 3-2.

Таблица 3-1

## Условия стресса/инкубации

Условия хранения/стресса	Время инкубации/стресса	Условия
Окисление*	0, 2, 6, 24 часов	37°C
Замораживание/оттаивание	0, 4 и 8 циклов	Каждый цикл включал замораживание при -30°C в течение по меньшей мере 2 часов и оттаивание при комнатной температуре
Перемешивание (250 об/мин на	0, 6 и 24 часов	Комнатная температура

орбитальном шейкере)	(□22°C)
----------------------	---------

\* После инкубации с  $H_2O_2$  все образцы немедленно подвергали буферному обмену в буфере 20 мМ гистидина, рН 6,2 с использованием центрифужных колонок Millipore для подавления окисления во время анализа образцов.

Таблица 3-2

**Уровни пероксида водорода, используемые в исследовании принудительного окисления**

Композиция #	Концентрация пероксида водорода (ч/млн)	Концентрация пероксида водорода (%)
F1	0	0
F2	0,01	0,000001
F3	0,1	0,00001
F4	0,5	0,00005
F5	1	0,0001
F6	10	0,001
F7	100	0,01
F8	500	0,05

Получали четырнадцать (14) мл F1 (контроль) и десять (10) мл каждой последующей композиции (F2-F8), показанной в Таблице 3-2. Каждую композицию стерилизовали фильтрованием с использованием шприца и 0,2 мкм фильтра Millipore Millex GV (PVDF Durapore) в вытяжном шкафу с ламинарным потоком. В композиции F2-F8 добавляли  $H_2O_2$  в вытяжном шкафу с ламинарным потоком после стерилизации фильтрованием. Композиции распределяли следующим образом:

1. Один (1) мл композиции F1 заполняли в десять (10) 2-мл стеклянных флаконов (также используемых для испытаний с F/T и перемешиванием).
2. По одному (1) мл композиций F2-F8 заполняли в четыре (4) 2-мл стеклянных флакона.

План аналитических испытаний для образцов, подвергающимся стрессу из-за F/T, перемешивания и окисления, показан в Таблице 3-4.

Таблица 3-4

**Аналитический план для F/T, перемешивания и окисления (добавка  $H_2O_2$ )**

Анализ	Анализируемый образец
Внешний вид	Все образцы
рН	Все образцы
Мутность (OD@405nm)	Все образцы
Выделение белка по данным ОФ-СВЭЖХ	Все образцы
Варианты, отличающиеся по молекулярному размеру, по данным эксклюзионной ВЭЖХ	Все образцы
Варианты, отличающиеся по заряду, по результатам катионообменной СВЭЖХ	Все образцы
Окисление Met по данным пептидного картирования (ЖХ-МС)	t=0; 0 ч/млн $H_2O_2$ 37°C 24 часа; 1 ч/млн $H_2O_2$ 37°C 24 часа; 500 ч/млн $H_2O_2$ 37°C 24 часа
Окисление Met по данным ГИХ-ВЭЖХ	Все образцы
Активность	t=0; 0 ч/млн $H_2O_2$ 37°C 24 часа;

	1 ч/млн H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 37°C 24 часа; 500 ч/млн H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 37°C 24 часа
--	---

OD=оптическая плотность

После стресса, вызванного замораживанием/оттаиванием и перемешиванием в условиях, описанных в Таблице 3-1, композиция 150 мг/мл H4N12166P, 20 мМ гистидина, pH 6,2 показала повышенные уровни HMW видов (Фиг. 7).

- После 4X и 8X циклов замораживание/оттаивание количество HMW видов увеличилось на 0,8% и 1,3%, соответственно.

- Минимальное увеличение HMW видов наблюдали после 6 часов перемешивания, и >0,5% увеличение HMW видов наблюдали после 24 часов перемешивания.

Никаких изменений вариантов заряда, по данным катионообменной СВЭЖХ, не наблюдали после стресса, вызванного замораживанием/оттаиванием или перемешиванием (см. Фиг. 8). Уровни окисления метионина в 150 мг/мл H4N12166P после инкубации с различными концентрациями пероксида водорода при 37°C в течение 24 часов определяли методом пептидного картирования (ЖХ-МС). Не наблюдали увеличения окисления метионина или значительной потери активности H4N12166P при инкубации с 1 ч/млн пероксида водорода (Таблица 3-5), и ~80% увеличение окисления Met105, ~21% увеличение окисления Met252 и ~6% увеличение окисления Met428 наблюдали, когда H4N12166P инкубировали с 500 ч/млн пероксида водорода. После инкубации с 500 ч/млн пероксида водорода наблюдали значительную потерю активности, определенную при помощи биоанализа.

**Таблица 3-5**

**Уровни окисления метионина, определенные методом пептидного картирования, и соответствующие относительные активности 150 мг/мл H4N12166P после инкубации с перекисью водорода**

Стрессовые условия	%Окисления по данным пептидного картирования				Активность* (биоанализ)
	HC Met105 (CDR)	HC Met252	HC Met428	LC Met4	
0 ч/млн H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> t=0	4,3	3,4	0,8	1	117%
0 ч/млн H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 37°C 24 часа	4,2	3,5	1,2	0,9	89%
1 ч/млн H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 37°C 24 часа	4,2	3,6	1,1	0,7	85%
500 ч/млн H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 37°C 24 часа	82,9	25,1	7,7	1,1	31%

\*Относительная активность=IC50 (Стандартный образец/Образец) \* 100

В биоанализе определяли ингибирование опосредованной комплемент-зависимой цитотоксичностью (комплемент-зависимая цитотоксичность (CDC)) гибели клеток при использовании анти-C5 (REGN3918). C5 расщеплялся на C5a и C5b, что способствовало инициации и прогрессированию пути CDC и образованию комплекса MAC, который способствует гибели клеток. В этом анализе определяли гибель клеток, измеренную с использованием набора CytoTox Glo (Promega). В наборе использовали субстрат, который

люминесцировал при расщеплении ферментами, высвобождаемыми из мертвых клеток; поэтому он мог измерять относительное количество гибели клеток в лунке.

Способ на основе высокопроизводительной гидрофобной интерактивной хроматографии (ГИХ) ВЭЖХ был разработан для количественного определения уровней окисления метионина в Н4Н12166Р. Этот метод недостаточно чувствителен, чтобы позволить идентифицировать специфические метиониновые остатки, которые подвергаются окислению, но на хроматограмме были разрешены отчетливые пики, которые увеличивались со временем инкубации. Площади пиков для образца 500 ч/млн пероксида водорода, которые отражают изменение различных окисленных видов, показаны на Фиг. 9. Общий % окисления (рассчитанный по сумме площадей всех пиков для окисленных видов, за исключением главного пика) при различных концентрациях пероксида водорода после инкубации при 37°C в течение до 24 часов показаны на Фиг. 10. Эти результаты показывают неопределяемое окисление Н4Н12166Р при инкубации с 10 ч/млн пероксида водорода при этих условиях. Результаты для 1 ч/млн и 500 ч/млн пероксида водорода, полученные методом пептидного картирования (ЖХ-МС) и ГИХ-ВЭЖХ, являются качественно согласуемыми (Таблица 3-5 и Фиг. 10).

Образцы Н4Н12166Р, инкубированные с перекисью водорода, также анализировали на варианты заряда (катионообменная СВЭЖХ) и варианты молекулярного размера (эксклюзионная СВЭЖХ). Минимальное (~1%) снижение вариантов с кислотным зарядом и сопоставимое увеличение вариантов с основным зарядом наблюдали только при 100 и 500 ч/млн пероксида водорода (Фиг. 11 и Фиг. 12).

Не было значимого увеличения образования НМВ видов даже при самой высокой исследуемой концентрации пероксида водорода (Фиг. 13), это указывает на то, что даже высокие уровни окисления метионина Н4Н12166Р не приводят к образованию конформационных видов, склонных к самоассоциации или агрегации.

#### **Пример 4: Сравнение вязкости молекул Н4Н12166Р и препаратов сравнения при высоких концентрациях**

Вязкость измеряли с использованием вискозиметра Rheosense m-VROC. Перед анализом стандарты и композиции фильтровали через 0,22 мкм PVDF центробежный фильтр. Перед анализом вязкости неизвестного образца измеряли два стандарта с известной вязкостью: 2 сПз и глицериновые стандарты. Измерения вязкости осуществляли при 20°C.

**Таблица 4-1**

**Вязкость Н4Н12166Р и различных анти-С5 антител<sup>#</sup>**

Антитело	Концентрация аргинина HCl	Вязкость при 20°C (сПз)					
		150 мг/мл	175 мг/мл	200 мг/мл	211 мг/мл	220 мг/мл	242 мг/мл
Позелимаб (Н4Н12166Р)	0	9,4	12,4	24,6	27,4	34,7	63,5
	50	-	8,3	14,3	19,2	24,1	42,3
Тезидолумаб (SEQ ID NO:)	0	124	слишком высокая	слишком высокая			

<b>362 и 363)</b>	50	24	48	91	
<b>Экулизумаб (SEQ ID NO: 364 и 365)</b>	0	17,8	N/A	N/A	
	50	9,8	22,4	38,6	
<b>Равулизумаб (SEQ ID NO: 366 и 367)</b>	0	67,8	слишком высокая	слишком высокая*	
	50	22,3	50,5	117,8	

# Все молекулы анализировали в 10 мМ гистидина, pH 5,5.

\* Образцы, которые хранили при 5°C, превращались в мутный гель (возможно из-за низкой растворимости).

· Включая C-концевой лизин

### **Пример 5: Долговременное и ускоренное испытание стабильности 200 мг/мл Н4Н12166Р.**

В исследованиях стабильности оценивали стабильность жидкой водной композиции Н4Н12166Р 200 мг/мл при длительном хранении и стрессовых условиях. Инициировали два исследования стабильности:

(1) 2-мл флакон из боросиликатного стекла типа 1 с заполнением 0,5 мл, хранящийся в вертикальном положении, и

(2) 5-мл флакон из боросиликатного стекла типа 1 с заполнением 2,5 мл, хранящийся, в перевернутом положении

**Таблица 5-1**

#### **План исследования**

		<b>2-мл стеклянный флакон, хранящийся в вертикальном положении</b>	<b>5-мл стеклянный флакон, хранящийся в перевернутом положении</b>
Хранение	Условия	5°C	5°C
	Продолжительность	0, 1, 3, 6, 9, 12, 18, 24, и 36 месяцев	0, 1, 3, 6, 9, 12, 18, 24, и 36 месяцев
Ускоренные испытания	Условия	25°C/60% RH	25°C/60% RH
	Продолжительность	0, 0,5, 1, 3, 6 месяцев	0, 1, 3, 6 месяцев
Термический стресс	Условия	40°C/75%RH	40°C/75% RH
	Продолжительность	0, 0,25, 0,5, 1, 2 и 3 месяцев	0, 0,5, 1 и 3 месяцев

#### **Результаты**

Характеристики водной композиции, включающей 200 мг/мл Н4Н12166Р, 20 мМ гистидина, pH 5,8, 100 мМ L-аргинина гидрохлорида, 2% (масс/об) сахарозы, 0,15% (масс/об) полисорбата 80, после 6 месяцев длительного (5°C) хранения в 2-мл флаконах из боросиликатного стекла типа 1 от компании Schott (хранили в вертикальном положении) представлены в Таблице 5-2. Таблица 5-3 и Таблица 5-4 представляют результаты, полученные для жидкой водной композиции Н4Н12166Р, 200 мг/мл, после хранения в условиях ускоренного испытания при 25°C, 60%RH и в стрессовых условиях 40°C, 75%RH, соответственно.

Таблица 5-2

Долгосрочная стабильность при 5°C<sup>#</sup>

Анализ	t=0	1 М (месяц)	3 М	6 М	9 М	12 М	
Внешний вид	+PASS	+PASS Без изменений прозрачности или мутности					
pH	5,7	5,8	5,8	5,8	5,8	5,8	
Общий белок по данным Solo-VPE (мг/мл)	212	210	208	214	192	205	
Мутность (увеличение OD при 405 нм)	-	0,00	0,00	0,01	0,00	0,01	
% Относительной активности по данным биоанализа	118	N/A	N/A	N/A	NR	111	
Чистота по данным эксклюзионной СВЭЖХ	% HMW	0,9	0,9	1,0	1,1	1,1	1,2
	% главных видов	98,9	98,8	98,8	98,7	98,3	98,3
	% LMW	0,2	0,4	0,2	0,3	0,6	0,5
Чистота по данным MCE-SDS в восстанавливающих условиях	Чистота, %	93,1	93,4	91,9	92,1	91,6	92,3
	% LMW	0,7	0,4	1,7	1,3	1,5	0,9
	% NGHC	5,2	5,4	4,9	5,1	4,3	5,4
Чистота по данным MCE-SDS в невосстанавливающих условиях	Чистота главного пика, %	98,1	98,0	95,8	97,2	98,3	95,7
	% LMW	2,0	2,0	3,5	2,4	1,6	4,2
	% HMW	0,0	0,0	0,6	0,4	0,1	0,1
Анализ вариантов заряда методом iCIEF	% области 1	28,8	30,4	30,3	30,3	32,8	31,8
	% области 2	60,2	59,0	58,6	55,9	56,0	57,1
	% области 3	11,0	10,7	11,1	13,8	11,2	11,1
Механические включения (Микропотокочная)	2-10 мкм	6908	N/A	10918	983	NR	800
	≥ 10мкм	50	N/A	13	8	NR	43
	≥ 25мкм	6	N/A	1	0	NR	5

визуализация; частиц/мл)							
-----------------------------	--	--	--	--	--	--	--

# Прозрачное стекло типа 1 USP, 2-мл флакон с 13 мм серой пробкой из хлорбутилкаучука диаметром с FlugoTec, хранимый в вертикальном положении и содержащий 200 мг/мл H4H12166P, 20 мМ гистидина, рН 5,8, 100 мМ L-аргинина гидрохлорида, 2% (масс/об) сахарозы, 0,15% (масс/об) полисорбата 80

+ Pass=от прозрачного до бледно-желтого, практически без видимых частиц

Таблица 5-3

**Стабильность в условиях ускоренных испытаний при 25°C, 60% RH\***

Анализ		t=0	0,5 М	1 М	3 М	6 М
Внешний вид		+PASS	+PASS Без изменений прозрачности или мутности			
рН		5,7	5,8	5,8	5,8	5,8
Общий белок по данным Solo-VPE (мг/мл)		212	211	209	208	212
Мутность (увеличение OD при 405 нм)		0,00	0,00	0,01	0,01	0,03
% Относительной активности по данным биоанализа		118	N/A	N/A	N/A	N/A
Чистота по данным эксклюзионной СВЭЖХ	% HMW	0,9	1,1	1,1	1,3	1,5
	% главных видов	98,9	98,6	98,6	98,4	98,1
	% LMW	0,2	0,3	0,3	0,3	0,4
Чистота по данным MCE-SDS в восстанавливающих условиях	Чистота, %	93,1	93,0	93,4	91,6	90,8
	% LMW	0,7	0,6	0,6	1,2	2,3
	% NGHC	5,2	5,3	5,3	5,6	5,3
Чистота по данным MCE-SDS в невосстанавливающих условиях	Чистота главного пика, %	98,1	98,0	97,8	95,7	96,6
	% LMW	2,0	2,0	2,2	3,6	2,7
	% HMW	0,0	0,0	0,0	0,7	0,7
Анализ вариантов заряда методом iCIEF	% области 1	28,8	N/A	28,9	31,0	33,1
	% области 2	60,2	N/A	56,9	53,5	47,2
	% области 3	11,0	N/A	14,2	15,6	19,7
Механически	2-10 мкм	6908	N/A	N/A	N/A	2117

е включения (Микропоток овая визуализация ; частиц/мл)	≥ 10мкм	50	N/A	N/A	N/A	41
	≥ 25мкм	6	N/A	N/A	N/A	7

\* Прозрачное стекло типа 1 USP, 2-мл флакон с 13 мм серой пробкой из хлорбутилкаучука диаметром с FlugoТес, хранимый в вертикальном положении и содержащий 200 мг/мл H4H12166P, 20 мМ гистидина, рН 5,8, 100 мМ L-аргинина гидрохлорида, 2% (масс/об) сахарозы, 0,15% (масс/об) полисорбата 80.

+ Pass=От прозрачного до бледно-желтого, практически без видимых частиц

Таблица 5-4

### Стабильность в условиях ускоренных испытаний при 40°C, 75%RH<sup>□</sup>

Анализ	t=0	0,25 М	0,5 М	1 М	2 М	3 М	
Внешний вид	+PASS	+PASS Без измене ний прозра чности или мутнос ти	+PASS Без измене ний прозра чности или мутност и	+PASS Без измене ний прозра чности или мутност и	+PASS Без измене ний прозра чности или мутност и	+PASS Без измене ний прозра чности или мутнос ти	
рН	5,7	5,8	5,8	6,1	5,8	5,7	
Общий белок по данным Solo-VPE (мг/мл)	212	210	212	212	204	213	
Мутность (увеличение OD при 405 нм)	0,00	0,01	0,01	0,02	0,03	0,06	
% Относительной активности по данным биоанализа	118	N/A	N/A	N/A	N/A	88	
Чистота по данным эксклюзионной СВЭЖХ	% HMW	0,9	1,3	1,4	1,9	3,8	5,8
	% главных видов	98,9	98,4	98,3	97,6	95,5	93,4
	% LMW	0,2	0,3	0,4	0,5	0,7	0,8
Чистота по данным МСЕ-SDS в восстанавливающих условиях	Чистота, %	93,1	92,5	92,8	91,9	88,5	87,2
	% LMW	0,7	0,7	0,6	1,1	3,9	5,2
	% NGHC	5,2	5,6	5,4	5,8	5,8	5,8
Чистота по данным МСЕ-SDS в невосстанавливающих условиях	Чистота, %	98,1	98,0	97,6	97,3	94,7	91,5
	% LMW	2,0	2,0	2,4	2,7	4,2	7,0
	% HMW	0,0	0,0	0,0	0,0	1,2	1,5
Анализ вариантов заряда методом iCIEF	% области 1	28,8	28,5	32,7	35,1	41,3	44,6
	% области 2	60,2	57,1	53,5	47,6	39,8	35,7
	% области 3	11,0	14,4	13,9	17,3	18,9	19,7

Механические включения (Микропотоковая визуализация; частиц/мл)	2-10 мкм	6908	N/A	N/A	N/A	4667	8617
	≥ 10мкм	50	N/A	N/A	N/A	35	336
	≥ 25мкм	6	N/A	N/A	N/A	9	36

□ Прозрачное стекло типа 1 USP, 2-мл флакон с 13 мм серой пробкой из хлорбутилкаучука диаметром с FluroTec, хранимый в вертикальном положении и содержащий 200 мг/мл H4N12166P, 20 мМ гистидина, рН 5,8, 100 мМ L-аргинина гидрохлорида, 2% (масс/об) сахарозы, 0,15% (масс/об) полисорбата 80.

+ Pass=От прозрачного до бледно-желтого, практически без видимых частиц

Сравнение результатов между 2-мл и 5-мл стеклянными флаконами показало, что такие факторы, как размер контейнера (2 мл и 5 мл) и объем наполнения (0,5 мл и 2,5 мл), не оказывали значимого влияния на пути разложения или тенденции ключевых показателей качества в композиции H4N12166P.

### **Пример 6: Испытание при перемешивании и замораживании/оттаивании для 200 мг/мл H4N12166P**

В исследованиях стабильности оценивали стабильность жидкой водной композиции H4N12166P 200 мг/мл в условиях перемешивания и замораживания/оттаивания.

**Таблица 6-1**

#### **Условия стресса/инкубации**

Условия хранения/стресса	Время инкубации/стресса	Условия
Перемешивание (250 об/мин на орбитальном шейкере)	0, 24 и 48 часов	Комнатная температура (□22°C)
Замораживание/оттаивание	0, 2 и 4 циклов	Каждый цикл включал замораживание при -30°C в течение по меньшей мере 2 часов и оттаивание при комнатной температуре

#### **Результаты**

Характеристики водной композиции, включающей 200 мг/мл H4N12166P, 20 мМ гистидина, рН 5,8, 100 мМ L-аргинина гидрохлорида, 2% (масс/об) сахарозы, 0,15% (масс/об) полисорбата 80, после перемешивания или замораживания/оттаивания в флаконах из боросиликатного стекла 6R типа 1 (хранили в вертикальном положении) представлены в Таблице 6-2 и 6-3.

**Таблица 6-2**

#### **Исследование стабильности при перемешивании**

Анализ	Перемешивание		
	t=0	24 часа	48 часов
Цвет и внешний вид*	+PASS	+PASS	+PASS
Мутность (увеличение OD при 405 нм)	0,00	0,00	0,00
рН	5,8	5,8	5,8
% Общего выделенного белка по данным ОФ-	100	99	100

<b>ВЭЖХ</b>				
Чистота по данным эксклюзионной СВЭЖХ	% HMW	1,1	1,1	1,1
	% главных видов	98,5	98,5	98,5
	% LMW	0,4	0,4	0,4
Чистота по данным MCE-SDS в восстанавливающих условиях	% тяжелой+легко й цепи	95,3	95,7	95,7
	% NGHC	2,6	2,4	2,1
	% LMW	0,8	1,2	1,1
Чистота по данным MCE-SDS в невосстанавливающих условиях	% главного пика	96,7	96,4	96,6
	% LMW	3,2	3,3	3,2
	% HMW	0,1	0,3	0,2
Анализ вариантов заряда методом iCIEF	% кислотных видов	29,5	28,9	29,0
	% главных видов	56,9	57,9	57,3
	% основных видов	13,6	13,3	13,7
Анализ вариантов заряда iCIEF СЕХ	% кислотных видов	22,9	22,8	22,8
	% главных видов	59,9	60,2	60,1
	% основных видов	17,2	17,0	17,2
Анализ частиц на основании MFI (частиц/мл)	≥ 10мкм	0	NR	3
	≥ 25мкм	0	NR	0

+Pass=От прозрачного до бледно-желтого, практически без видимых частиц

Таблица 6-3

### Исследования стабильности при замораживании-оттаивании

Анализ	Замораживание/оттаивание		
	t=0	2 цикла	4 цикла
Цвет и внешний вид*	+PASS	+PASS	+PASS
Мутность (увеличение OD при 405 нм)	0,00	0,00	0,01
pH	5,8	5,8	5,8
% Общего выделенного белка по данным ОФ- ВЭЖХ	100	100	99
Чистота по данным эксклюзионной СВЭЖХ	% HMW	1,1	1,1
	% главных видов	98,4	98,4
	% LMW	0,5	0,5
Анализ вариантов заряда методом iCIEF	% кислотных видов	28,6	26,3
	% главных видов	58,2	59,8
	% основных видов	13,3	13,9

Анализ вариантов заряда методом СЕХ	% кислотных видов	22,9	23,0	23,1
	% главных видов	60,1	60,8	60,5
	% основных видов	17,0	16,3	16,4
Анализ частиц на основании MFI (частиц/мл)	≥ 10мкм	3	NR	3
	≥ 25мкм	0	NR	2

<sup>+</sup>Pass=От прозрачного до бледно-желтого, практически без видимых частиц

Отсутствие заметного изменения физической или химической стабильности после 48 часов перемешивания и 4 циклов замораживание/оттаивание для водной композиции, включающей 200 мг/мл Н4Н12166Р.

#### **Пример 7: Длительное испытание стабильности для 274 мг/мл Н4Н12166Р**

В исследованиях стабильности оценивали стабильность жидкой водной композиции Н4Н12166Р 274 мг/мл при длительном хранении (5°C).

#### **Результаты**

Характеристики водной композиции, включающей 274 мг/мл Н4Н12166Р, 20 мМ гистидина, рН 5,8, 100 мМ L-аргинина гидрохлорида, 2% (масс/об) сахарозы, 0,15% (масс/об) полисорбата 80, после 15,5 месяцев длительного (5°C) хранения в 5-мл контейнере приведены в Таблице 7-1. Таблица 7-2 представляет характеристики жидкой водной композиции Н4Н12166Р 274 мг/мл после замораживания/оттаивания.

**Таблица 7-1**

#### **Стабильность после перемешивания**

Анализ		t=0	2 дня	7 дней	6 месяцев	15,5 месяцев
Цвет и внешний вид*		<sup>+</sup> PASS				
рН		5,9	5,9	5,9	5,9	5,9
Общий белок по данным ОФ-СВЭЖХ (мг/мл)		282	282	282	294	281
Мутность (увеличение OD при 405 нм)		-	0,02	0,03	0,01	0,02
Чистота по данным эксклюзионной СВЭЖХ	% HMW	2,1	2,1	2,1	2,3	2,4
	% главных видов	97,5	97,5	97,5	97,1	96,9
	% LMW	0,4	0,4	0,4	0,6	0,7
Анализ вариантов заряда методом катионообменной СВЭЖХ	% кислотных видов	29,2		29,2	28,0	28,3
	% главного пика	58,0	58,2	58,2	58,7	58,4
	% основных видов	12,8	12,7	12,6	13,3	13,3
Механические включения (Микропотоковая визуализация, Частиц/мл)	2-10мкм	129	109	579	61	94
	≥ 10мкм	14	26	32	35	18
	≥ 25мкм	8	3	6	11	3

\*Pass=От прозрачного до бледно-желтого, практически без видимых частиц

Таблица 7-2

## Стабильность после замораживания-оттаивания

Анализ		t=0	2 цикла	4 цикла	8 циклов
Цвет и внешний вид		+PASS	+PASS	+PASS	+PASS
рН		5,9	5,9	5,9	5,8
Общий белок по данным ОФ-СВЭЖХ (мг/мл)		282	281	284	282
Мутность (увеличение OD при 405 нм)		-	0,02	0,02	0,03
Чистота по данным эксклюзионной СВЭЖХ	% HMW	2,1	2,1	2,2	2,2
	% главных видов	97,5	97,5	97,4	97,4
	% LMW	0,4	0,4	0,4	0,4
Анализ вариантов заряда методом катионообменной СВЭЖХ	% кислотных видов	29,2	29,2	29,2	29,3
	% главного пика	58,0	58,0	58,3	57,7
	% основных видов	12,8	12,7	12,6	13,0
Механические включения (Микропотоковая визуализация, Частиц/мл)	2-10мкм	129	111	233	216
	≥ 10мкм	14	24	35	21
	≥ 25мкм	8	3	14	6

\*Pass=От прозрачного до бледно-желтого, практически без видимых частиц

Отсутствие заметного изменения физической или химической стабильности после 15,5 месяцев при 5°C 8 циклов замораживания/оттаивания для водной композиции, включающей 274 мг/мл Н4Н12166Р.

**Пример 8: Сравнение вязкости Н4Н12166Р**

Вязкость измеряли с использованием автоматического вискозиметра Rheosense Initium. Перед анализом стандарты и композиции фильтровали через 0,22 мкм PVDF центробежный фильтр. Перед анализом вязкости неизвестного образца измеряли два стандарта с известной вязкостью: 2 сПз и глицериновые стандарты. Измерения вязкости осуществляли при различных температурах (5-40°C) водных композиций, включающих 161-274 мг/мл Н4Н12166Р, 20 мМ гистидина, рН 5,8, 100 мМ L-аргинина гидрохлорида, 2% (масс/об) сахарозы, 0,15% (масс/об) полисорбата 80. Таблица 8-1 представляет измеренную вязкость.

Таблица 8-1

Вязкость Н4Н12166Р при различных температурах<sup>#</sup>

Температура (°C)	Вязкость (сПз)							
	Концентрация Н4Н12166Р (мг/мл)							
	161	177	190	198	205	221	240	274
5	12,7	19,5	25,0	28,1	36,9	47,6	83,5	114,6
10	10,1	14,9	18,8	21,2	27,5	34,4	57,9	82,2
15	8,2	11,8	14,8	16,5	21,1	26,3	42,9	62,2
20	6,8	9,6	11,9	13,2	16,7	20,6	33,0	48,4
25	5,7	8,0	9,8	10,8	13,5	16,6	26,0	38,0
30	4,9	6,8	8,1	9,0	11,2	13,6	21,1	не измеряли
35	4,2	5,7	7,0	7,6	9,4	11,3	17,1	не измеряли
40	3,7	5,0	6,0	6,5	7,9	9,5	14,3	30,8

<sup>#</sup>Содержит 20 мМ гистидина, рН 5,8, 100 мМ L-аргинина гидрохлорида, 2% (масс/об)

---

сахарозы, 0,15% (масс/об) полисорбата 80

Все ссылки, цитируемые в настоящей заявке, включены в качестве ссылки в той же степени, как если бы каждая отдельная публикация, запись в базе данных (например, последовательности Genbank или номера GeneID), патентная заявка или патент были конкретно и отдельно указаны для включения в качестве ссылки. Заявители предполагают, что это заявление о включении посредством ссылки относится к каждой отдельной публикации, записи в базе данных (например, последовательностям Genbank или номерам GeneID), патентной заявке или патенту, даже если такое цитирование не находится непосредственно рядом с отдельным заявлением о включении посредством ссылки. Включение специальных заявлений о включении посредством ссылки, если таковые имеются, в описание никоим образом не ослабляет это общее заявление о включении посредством ссылки. Цитирование ссылок в настоящей заявке не означает признание того, что ссылка относится к известному уровню техники, а также не является признанием, касающимся содержания или даты этих публикаций или документов.

**ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ**

1. Водная фармацевтическая композиция, включающая около 161-274 мг/мл или более антигенсвязывающего белка, который специфически связывается с фактором комплемента 5 (анти-C5), и фармацевтически приемлемый носитель; которая характеризуется одним или более, выбранными из следующих:

(i) вязкость около 8, около 9, около 10, около 11, около 12, около 13, около 14, около 14,3, около 15, менее чем около 15, около 16, около 17, около 18, около 19, около 20, или от около 8 до около 20 сПз, при температуре около 20°C;

(ii) вязкость около 50 сПз при около 20°C;

(iii) осмоляльность около 267-404 ммоль/кг;

(iv) демонстрирует увеличение около 0,1 или около 0,2% или менее высокомолекулярных (НМВ) видов после перемешивания на орбитальном шейкере в течение примерно 6 часов при 250 об/мин;

(v) демонстрирует увеличение на около 0,5, около 0,6 или около 0,7% высокомолекулярных (НМВ) видов после перемешивания на орбитальном шейкере в течение примерно 24 часов при 250 об/мин;

(vi) демонстрирует увеличение на около 0,8, около 0,9 или около 1,0% высокомолекулярных (НМВ) видов после 4 циклов замораживания-оттаивания, где замораживание происходит при температуре около -30°C, а оттаивание происходит при около 22°C;

(vii) демонстрирует увеличение на около 1,0, около 1,1, около 1,2 или около 1,3% высокомолекулярных (НМВ) видов после 8 циклов замораживания-оттаивания, где замораживание происходит при температуре около -30°C, а оттаивание происходит при около 22°C;

(viii) анти-C5 антигенсвязывающий белок имеет  $T_{m1}$  (начало) около 58,0°C,  $T_{m1}$  около 61,7°C; и  $T_{m2}$  около 73,2°C, как измерено с использованием дифференциальной сканирующей калориметрии (DSC);

(ix) один или более метионинов в анти-C5 антигенсвязывающем белке окислены;

(x) включает содержание эндотоксина менее чем или равное примерно 0,1 ЕЭ/мг;

(xi) включает около 0,9% высокомолекулярных (НМВ) видов, как определено эксклюзионной сверхвысокоэффективной жидкостной хроматографией (эксклюзионной СВЭЖХ);

(xii) включает около 0,9, около 1,0, около 1,1, около 1,2 или около 0,9-1,2% высокомолекулярных (НМВ) видов, как определено эксклюзионной сверхвысокоэффективной жидкостной хроматографией (эксклюзионной СВЭЖХ), после примерно 0, примерно 1, примерно 3, примерно 6, примерно 9 или примерно 12 месяцев хранения при около 5°C;

(xiii) включает около 0,9, около 1,0, около 1,1, около 1,2, около 1,3, около 1,4, около 1,5, или около 1,1-1,5% высокомолекулярных (НМВ) видов, как определено эксклюзионной сверхвысокоэффективной жидкостной хроматографией (эксклюзионной

СВЭЖХ), после примерно 0, примерно 0,5, примерно 1, примерно 3 или примерно 6 месяцев хранения при около 25°C;

(xiv) включает около 0,9, около 1,0, около 1,1, около 1,2, около 1,3, около 1,4, около 1,9, около 3,8, около 5,8% или около 1,3-5,8% высокомолекулярных (HMW) видов, как определено эксклюзионной сверхвысокоэффективной жидкостной хроматографией (эксклюзионной СВЭЖХ), после примерно 0, примерно 0,25, примерно 0,5, примерно 1, примерно 2 или примерно 3 месяцев хранения при около 40°C;

(xv) включает около 0,2, около 0,3, около 0,4, около 0,5 около 0,6 или около 0,2-0,6% низкомолекулярных (LMW) видов, как определено эксклюзионной сверхвысокоэффективной жидкостной хроматографией (эксклюзионной СВЭЖХ), после примерно 0, примерно 1, примерно 3, примерно 6, примерно 9 или примерно 12 месяцев хранения при около 5°C;

(xvi) включает около 0,2, около 0,3, около 0,4 или около 0,3-0,4% низкомолекулярных (LMW) видов, как определено эксклюзионной сверхвысокоэффективной жидкостной хроматографией (эксклюзионной СВЭЖХ), после примерно 0, примерно 0,5, примерно 1, примерно 3 или примерно 6 месяцев хранения при около 25°C;

(xvii) включает около 0,3, около 0,4, около 0,5, около 0,6, около 0,7, около 0,8 или около 0,3-0,8% низкомолекулярных (LMW) видов, как определено эксклюзионной сверхвысокоэффективной жидкостной хроматографией (эксклюзионной СВЭЖХ), после примерно 0, примерно 0,25, примерно 0,5, примерно 1, примерно 2 или примерно 3 месяцев хранения при около 40°C;

(xviii) включает около 98, около 98,3, около 98,4, около 98,5, около 98,6, около 98,7, около 98,8, около 99 или около 98,3-98,8% главных видов, как определено эксклюзионной сверхвысокоэффективной жидкостной хроматографией (эксклюзионной СВЭЖХ), после примерно 0, примерно 1, примерно 3 или примерно 6, около 9 или около 12 месяцев хранения при около 5°C;

(xix) включает около 98, около 98,1, около 98,2, около 98,3, около 98,4, около 98,5, около 98,6, около 98,7, около 98,8, около 98,9, около 99 или около 98,1-98,6% главных видов, как определено эксклюзионной сверхвысокоэффективной жидкостной хроматографией (эксклюзионной СВЭЖХ), после примерно 0, примерно 0,5, примерно 1, примерно 3 или примерно 6 месяцев хранения при около 25°C;

(xx) включает около 98,9, около 98,4 около 98,3, около 97,6, около 95,5, около 93,4 или около 93,4-98,4% главных видов, как определено эксклюзионной сверхвысокоэффективной жидкостной хроматографией (эксклюзионной СВЭЖХ), после примерно 0, примерно 0,25, примерно 0,5, примерно 1, примерно 2 или примерно 6 месяцев хранения при около 40°C;

(xxi) включает около 29% вариантов с кислотным зарядом, около 11% вариантов с основным зарядом и/или около 60% главных видов, как определено методом капиллярного изоэлектрического фокусирования с визуализацией (iCIEF);

(xxii) включает около 30% вариантов с кислотным зарядом, около 14% вариантов с основным зарядом и/или около 56% главных видов, например, как определено методом капиллярного изоэлектрического фокусирования с визуализацией (iCIEF), например, после примерно 6 месяцев хранения при около 5°C;

(xxiii) включает около 33% вариантов с кислотным зарядом, около 20% вариантов с основным зарядом и/или около 47% главных видов, как определено методом капиллярного изоэлектрического фокусирования с визуализацией (iCIEF), после примерно 6 месяцев хранения при около 25°C;

(xxiv) включает около 45% вариантов с кислотным зарядом, около 36% вариантов с основным зарядом и/или около 20% главных видов, как определено методом капиллярного изоэлектрического фокусирования с визуализацией (iCIEF), после примерно 3 месяцев хранения при около 40°C; и

(xxv) включает буфер; L-аргинин; воду; и, необязательно, олигосахарид; и, необязательно, неионогенный детергент, с рН до около 6,1 и вязкостью около 14 сПз, около 14,3 сПз или около 15 сПз, или менее чем 15 сПз (при 20°C).

2. Водная фармацевтическая композиция, включающая:

около 161-274 мг/мл или более антигенсвязывающего белка, который специфически связывается с С5; и фармацевтически приемлемый носитель, включающий:

буфер;

L-аргинин;

воду;

и,

необязательно, олигосахарид; и

необязательно, неионогенный детергент,

с рН до около 5,8, 6,1 или 5,5-6,1; и вязкостью при 20°C около 6,8, около 9,6, около 11,9, около 13,2, около 16,7, около 20,6, около 33,0, около 48,4, около 13,2-16,7 или около 6,8-48,4.

3. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-2, где антигенсвязывающий белок представляет собой антитело или его антигенсвязывающий фрагмент.

4. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-3, где концентрация антигенсвязывающего белка, который специфически связывается с С5, составляет около 274 мг/мл или около 200 мг/мл.

5. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-4, где L-аргинин представляет собой L-аргинин-гидрохлорид.

6. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-5, где концентрация аргинина составляет около 100 мМ.

7. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-6, включающая олигосахарид, где олигосахарид представляет собой сахарозу, маннит, декстрозу, глицерин, ТМАО (N-оксид триметиламина), трегалозу, этиленгликоль, глицин-бетаин, ксилит или сорбит.

8. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-7, включающая олигосахарид, где олигосахарид представляет собой сахарозу.

9. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-8, включающая олигосахарид, где концентрация олигосахаридов составляет около 2% (масс/об).

10. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-9, где уровень pH составляет около 5,8.

11. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-10, где антигенсвязывающий белок, который специфически связывается с C5, представляет собой: H2M11683N; H2M11686N; H4H12159P; H4H12161P; H4H12163P; H4H12164P; H4H12166P; H4H12166P2; H4H12166P3; H4H12166P4; H4H12166P5; H4H12166P6; H4H12166P7; H4H12166P8; H4H12166P9; H4H12166P10; H4H12167P; H4H12168P; H4H12169P; H4H12170P; H4H12171P; H4H12175P; H4H12176P2; H4H12177P2; H4H12183P2; H2M11682N; H2M11684N; H2M11694N; H2M11695N, равулизумаб, экулизумаб, кровалимаб, тезидолумаб, мубодину, IFX-1 и/или олендализумаб.

12. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-10, где антигенсвязывающий белок, который специфически связывается с C5, представляет собой позелимаб.

13. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-12, где буфер представляет собой фосфатный буфер, ацетатный буфер, цитратный буфер, гистидиновый буфер или имидазольный буфер.

14. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-13, где буфер представляет собой гистидиновый буфер.

15. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-14, где концентрация буфера составляет около 20 мМ.

16. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-15, включающая неионогенный детергент, где неионогенный детергент представляет собой детергент на основе полиоксиэтилена или детергент на основе гликозидного соединения, полисорбат-20, полисорбат-80 или твин-20.

17. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-16, включающая неионогенный детергент, где неионогенный детергент представляет собой полисорбат-80.

18. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-17, включающая неионогенный детергент, где концентрация неионогенного детергента составляет около 0,15% (масс/об).

19. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-18, включающая:  
около 180-210 мг/мл антигенсвязывающего белка, который специфически связывается с C5;

около  $20 \pm 4$  мМ буфера;

около  $100 \pm 20$  мМ L-аргинина;

около  $2 \pm 0,4\%$  (масс/об) олигосахаридов;

около  $0,15 \pm 0,075\%$  (масс/об) неионогенного детергента; и

воду,

pH  $5,8 \pm 0,3$ .

20. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-19, включающая:

около 200 мг/мл антигенсвязывающего белка, который специфически связывается с C5;

около  $20 \pm 4$  мМ гистидинового буфера;

около  $100 \pm 20$  мМ L-аргинина;

около  $2 \pm 0,4\%$  (масс/об) сахарозы;

около  $0,15 \pm 0,075\%$  (масс/об) полисорбата-80; и

воду,

pH  $5,8 \pm 0,3$ .

21. Водная фармацевтическая композиция, включающая:

- около 200 мг/мл H2M11683N; около 20 мМ гистидинового буфера; около 100 мМ L-аргинина; около 2% (масс/об) сахарозы; около 0,15% (масс/об) полисорбата-80 (PS-80) и воду, pH около 5,8;

- около 200 мг/мл H2M11686N; около 20 мМ гистидинового буфера; около 100 мМ L-аргинина; около 2% (масс/об) сахарозы; около 0,15% (масс/об) полисорбата-80 и воду, pH около 5,8;

- около 200 мг/мл H4H12159P; около 20 мМ гистидинового буфера; около 100 мМ L-аргинина; около 2% (масс/об) сахарозы; около 0,15% (масс/об) полисорбата-80 и воду, pH около 5,8;

- около 200 мг/мл H4H12161P; около 20 мМ гистидинового буфера; около 100 мМ L-аргинина; около 2% (масс/об) сахарозы; около 0,15% (масс/об) полисорбата-80 и воду, pH около 5,8;

- около 200 мг/мл H4H12163P; около 20 мМ гистидинового буфера; около 100 мМ L-аргинина; около 2% (масс/об) сахарозы; около 0,15% (масс/об) полисорбата-80 и воду, pH около 5,8;

- около 200 мг/мл H4H12164P; около 20 мМ гистидинового буфера; около 100 мМ L-аргинина; около 2% (масс/об) сахарозы; около 0,15% (масс/об) полисорбата-80 и воду, pH около 5,8;

- около 200 мг/мл H4H12166P; около 20 мМ гистидинового буфера; около 100 мМ L-аргинина; около 2% (масс/об) сахарозы; около 0,15% (масс/об) полисорбата-80 и воду, pH около 5,8;

- около 200 мг/мл H4H12166P2; около 20 мМ гистидинового буфера; около 100 мМ L-аргинина; около 2% (масс/об) сахарозы; около 0,15% (масс/об) полисорбата-80 и воду, pH около 5,8;

- около 200 мг/мл H4H12166P3; около 20 мМ гистидинового буфера; около 100 мМ L-аргинина; около 2% (масс/об) сахарозы; около 0,15% (масс/об) полисорбата-80 и воду, pH около 5,8;

- около 200 мг/мл H4H12166P4; около 20 мМ гистидинового буфера; около 100 мМ



pH около 5,8;

- около 200 мг/мл H4H12183P2; около 20 мМ гистидинового буфера; около 100 мМ L-аргинина; около 2% (масс/об) сахарозы; около 0,15% (масс/об) полисорбата-80 и воду, pH около 5,8;

- около 200 мг/мл H2M11682N; около 20 мМ гистидинового буфера; около 100 мМ L-аргинина; около 2% (масс/об) сахарозы; около 0,15% (масс/об) полисорбата-80 и воду, pH около 5,8;

- около 200 мг/мл H2M11684N; около 20 мМ гистидинового буфера; около 100 мМ L-аргинина; около 2% (масс/об) сахарозы; около 0,15% (масс/об) полисорбата-80 и воду, pH около 5,8;

- около 200 мг/мл H2M11694N; около 20 мМ гистидинового буфера; около 100 мМ L-аргинина; около 2% (масс/об) сахарозы; около 0,15% (масс/об) полисорбата-80 и воду, pH около 5,8;

- около 200 мг/мл H2M11695N; около 20 мМ гистидинового буфера; около 100 мМ L-аргинина; около 2% (масс/об) сахарозы; около 0,15% (масс/об) полисорбата-80 и воду, pH около 5,8;

- около 200 мг/мл H4H12166P, около 5 мМ гистидина, около 2,5% (масс/об) пролина, около 5% (масс/об) сахарозы, около 150 мМ L-аргинина-HCl, около 0,2% (масс/об) PS-80 и воду, pH около 5,7;

- около 135 мг/мл H4H12166P, около 20 мМ гистидина, около 5% (масс/об) пролина, около 10% (масс/об) сахарозы, около 150 мМ L-аргинина-HCl, около 0,02% (масс/об) PS-80 и воду, pH около 5,7;

- около 160 мг/мл H4H12166P, около 5 мМ гистидина, около 5% (масс/об) сахарозы, около 75 мМ L-аргинина-HCl, около 0,02% (масс/об) PS-80 и воду, pH около 6,2;

- около 120 мг/мл H4H12166P, около 40 мМ гистидина, около 5% (масс/об) пролина, около 0,02% (масс/об) PS-80 и воду, pH около 6,8;

- около 120 мг/мл H4H12166P, около 40 мМ гистидина, около 0,02% (масс/об) PS-80 и воду, pH около 5,7;

- около 160 мг/мл H4H12166P, около 5 мМ гистидина, около 2,5% (масс/об) пролина, около 10% (масс/об) сахарозы, около 0,2% (масс/об) PS-80 и воду, pH около 6,8;

- около 120 мг/мл H4H12166P, около 40 мМ гистидина, около 5% (масс/об) пролина, около 150 мМ L-аргинина-HCl, около 0,02% (масс/об) PS-80 и воду, pH около 5,7;

- около 200 мг/мл H4H12166P, около 5 мМ гистидина, около 0,2% (масс/об) PS-80 и воду, pH около 5,7;

- около 200 мг/мл H4H12166P, около 20 мМ гистидина, около 5% (масс/об) пролина, около 10% (масс/об) сахарозы, около 0,2% (масс/об) PS-80 и воду, pH около 6,2;

- около 120 мг/мл H4H12166P, около 40 мМ гистидина, около 150 мМ L-аргинина-HCl, около 0,02% (масс/об) PS-80 и воду, pH около 6,8;

- около 200 мг/мл H4H12166P, около 5 мМ гистидина, около 5% (масс/об) пролина,



- около 170 мг/мл N4H12166P, около 35 мМ гистидина, около 150 мМ L-аргинина-HCl, около 0,02% (масс/об) PS-80 и воду, pH около 5,7;
- около 183 мг/мл N4H12166P, около 40 мМ гистидина, около 0,2% (масс/об) PS-80 и воду, pH около 6,8;
- около 200 мг/мл N4H12166P, около 5 мМ гистидина, около 5% (масс/об) пролина, около 5% (масс/об) сахарозы, около 0,02% (масс/об) PS-80 и воду, pH около 6,8.
- около 160 мг/мл N4H12166P, около 40 мМ гистидина, около 2,5% (масс/об) пролина, около 5% (масс/об) сахарозы, около 75 мМ L-аргинина-HCl, около 0,2% (масс/об) PS-80 и воду, pH около 6,2;
- около 187 мг/мл N4H12166P, около 40 мМ гистидина, около 0,02% (масс/об) PS-80 и воду, pH около 5,7;
- около 200 мг/мл  $\pm$  20 мг/мл N4H12166P, около 10-24 мМ гистидина, pH около 5,5  $\pm$  0,6, воду и около 100 мМ  $\pm$  20 мМ L-аргинина;
- около 200 мг/мл N4H12166P, около 20 мМ гистидина, pH около 5,8, воду, около 2% сахарозы, около 100 мМ L-аргинина, и около 0,15% полисорбата-80;
- около 274 мг/мл N4H12166P, около 20 мМ гистидина, pH около 5,8, воду, около 2% сахарозы, около 100 мМ L-аргинина, и около 0,15% полисорбата-80; или
- около 180-210 мг/мл N4H12166P, около 16-24 мМ гистидина, pH около 5,5-6,1, воду, около 1,6-2,4% (масс/об) сахарозы, около 80-120 мМ L-аргинина и около 0,075-0,225% (масс/об) полисорбата-80.

22. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-21 в сочетании с дополнительным терапевтическим средством.

23. Фармацевтическая композиция по п. 22, где дополнительное терапевтическое средство представляет собой олигонуклеотид, антикоагулянт, варфарин, аспирин, гепарин, фениндион, фондапаринукс, идрапаринукс, ингибитор тромбина, аргатробан, лепирудин, бивалирудин, дабигатран, противовоспалительное лекарственное средство, кортикостероид, нестероидное противовоспалительное средство (НПВС), антигипертензивное средство, ингибитор ангиотензинпревращающего фермента, иммунодепрессант, винкристин, циклоспорин А или метотрексат, фибринолитическое средство анкрод, Е-аминокапроновую кислоту, антиплазмин-а1, простациклин, дефибротид, гиполипидемическое средство, ингибитор гидроксиметилглутарил-КоА-редуктазы, анти-CD20 средство, ритуксимаб, анти-TNFальфа средство, инфликсимаб, противосудорожное средство, сульфат магния, ингибитор С3 и/или антитромботическое средство.

24. Фармацевтическая композиция по п. 22, где дополнительное терапевтическое средство представляет собой олигонуклеотид, который представляет собой:

- ДНК олигонуклеотид,
- РНК олигонуклеотид,
- одноцепочечный ДНК олигонуклеотид,
- одноцепочечный РНК олигонуклеотид,

- двухцепочечный ДНК олигонуклеотид или
- двухцепочечный РНК олигонуклеотид;

при этом необязательно олигонуклеотид конъюгирован с сахаром.

25. Способ получения фармацевтической композиции по любому из пп. 1-24, включающий смешивание антигенсвязывающего белка и носителя.

26. Фармацевтическая композиция, которая является продуктом способа по п. 25.

27. Внутривенная композиция, включающая фармацевтическую композицию по любому из пп. 1-24 или 26 в водном растворе для внутривенного введения.

28. Внутривенная композиция по п. 27, где водный раствор для внутривенного введения имеет объем около 250 мл, 500 мл, 750 мл или 1000 мл.

29. Внутривенная композиция по любому из пп. 27-28, включающая одно или более выбранных из группы, состоящей из NaCl, декстрозы, калиевой соли, хлорида калия, кальциевой соли, хлорида кальция, лактата натрия и лактатной соли.

30. Внутривенная композиция по любому из пп. 27-29, где водный раствор для внутривенного введения представляет собой 0,9% Физиологический раствор, лактат Рингера, 5% раствор декстрозы в воде; 0,45% Физиологический раствор; 0,33% раствор NaCl; 0,225% раствор NaCl; 2,5% раствор декстрозы в воде; 3% раствор NaCl; 5% раствор NaCl; раствор 5% декстрозы в 0,45% NaCl; раствор 5% декстрозы и 0,45% NaCl; раствор 5% декстрозы в 0,9% NaCl; раствор 5% декстрозы в лактате Рингера; лактат Рингера, который содержит 0,6% NaCl; 10% раствор декстрозы в воде; 20% раствор декстрозы в воде; или 50% раствор декстрозы в воде.

31. Внутривенная композиция по любому из пп. 27-30, которая содержит такое количество указанной фармацевтической композиции, что при введении субъекту достигается доза 1, 3, 10, 15 или 30 мг/кг массы тела.

32. Стекланный или пластиковый пакет для внутривенного введения или стеклянная или пластиковая бутылка, включающие внутривенную композицию по любому из пп. 27-31.

33. Внутривенная композиция, пакет или бутылка по любому из пп. 27-32, которые являются стерильными.

34. Способ получения внутривенной композиции по любому из пп. 27-31 или 33, включающий введение указанной фармацевтической композиции в водный раствор для внутривенного введения.

35. Внутривенная композиция, которая является продуктом способа по п. 34.

36. Сосуд или инъекционное устройство, включающее композицию по любому из пп. 1-24 и 26.

37. Способ снижения вязкости композиции, включающей около 161-274 мг/мл позелимаба, включающий объединение указанного позелимаба с аргинином.

38. Способ по п. 37, где конечная концентрация аргинина в композиции составляет около 50 мМ или около 100 мМ.

39. Способ по любому из пп. 37-38, где конечная концентрация позелимаба

составляет около 150 мг/мл, около 161 мг/мл, 175 мг/мл, около 177 мг/мл, около 190 мг/мл, около 198 мг/мл, 200 мг/мл, 205 мг/мл, 211 мг/мл, 220 мг/мл, 221 мг/мл, 240 мг/мл, 242 мг/мл или 274 мг/мл, по меньшей мере около 150 мг/мл, по меньшей мере около 175 мг/мл, по меньшей мере около 200 мг/мл, по меньшей мере около 211 мг/мл, по меньшей мере около 220 мг/мл, по меньшей мере около 242 мг/мл или по меньшей мере около 274 мг/мл.

40. Способ по любому из пп. 37-39, где вязкость представляет собой вязкость в сПз, измеренную при 20°C.

41. Способ по любому из пп. 37-40, где вязкость снижается на около 30% или около 30-42%.

42. Способ введения фармацевтической композиции или внутривенной композиции по любому из пп. 1-24, 26-31, 33 или 35 субъекту, включающий введение фармацевтической композиции или внутривенной композиции и, необязательно, дополнительного терапевтического средства в организм субъекта.

43. Способ по п. 42, где фармацевтическую композицию или внутривенную композицию вводят в организм субъекта отдельно от дополнительного терапевтического средства.

44. Способ по любому из пп. 42-43, где фармацевтическую композицию и/или внутривенную композицию; и дополнительное терапевтическое средство вводят парентерально.

45. Способ по любому из пп. 42-44, где парентерально означает внутривенно, внутримышечно или подкожно.

46. Способ лечения или профилактики С5-ассоциированного заболевания у нуждающегося в этом субъекта, включающий введение субъекту терапевтически эффективного количества фармацевтической композиции и/или внутривенной композиции по любому из пп. 1-24, 26-31, 33 или 35 и, необязательно, дополнительного терапевтического средства.

47. Способ по п. 46, где указанную фармацевтическую композицию и/или внутривенную композицию вводят отдельно от дополнительного терапевтического средства.

48. Способ по любому из пп. 46-47, где С5-ассоциированное заболевание выбрано из группы, состоящей из: атипичного гемолитико-уремического синдрома (aHUS), пароксизмальной ночной гемоглобинурии (PNH), тяжелой миастении или болезни CHAPLE.

49. Способ по любому из пп. 46-48, где С5-ассоциированное заболевание выбрано из группы, состоящей из респираторного дистресс-синдрома взрослых; возрастной макулярной дегенерации (AMD); аллергии; синдрома Альпорта; болезни Альцгеймера; антифосфолипидного синдрома (APS); астмы; атеросклероза; атипичного гемолитико-уремического синдрома (aHUS); аутоиммунного заболевания; аутоиммунной гемолитической анемии (АИНА); баллонной ангиопластики; бронхоспазма; буллезного

пемфигоида; ожогов; С3 гломерулопатии; синдрома повышенной проницаемости капилляров; сердечно-сосудистого заболевания; катастрофического антифосфолипидного синдрома (CAPS); цереброваскулярного расстройства; болезни CHAPLE; химического повреждения; хронической обструктивной болезни легких (COPD); болезни холодных агглютининов (CAD); ткани роговицы и/или сетчатки; болезни Крона; болезни Дегоса; болезни плотных депозитов (DDD); дерматомиозита; диабета; диабетической ангиопатии; диабетического макулярного отека (DME); диабетической нефропатии; диабетической ретинопатии; дилатационной кардиомиопатии; расстройств несоответствующей или нежелательной активации комплемента; одышки; эмфиземы; буллезного эпидермолиза; эпилепсии; фиброгенной пылевой болезни; обморожения; географической атрофии (GA); гломерулонефрита; гломерулопатии; синдрома Гудпасчера; болезни Грейвса; синдрома Гийена-Барре; тиреоидита Хашимото; осложнений гемодиализа; синдрома гемолиза-повышенного уровня ферментов печени-низкого уровня тромбоцитов (HELLP); гемолитической анемии; гемофтиза; нефрита при пурпуре Шенлейна-Геноха; наследственного ангионевротического отека; сверхострого отторжения аллотрансплантата; гиперчувствительного пневмонита; идиопатической тромбоцитопенической пурпуры (ИТП); IgA-нефропатии; расстройства иммунного комплекса; иммунокомплексного васкулита; воспаления, связанного с иммунным комплексом; инфекционного заболевания; воспаления, вызванного аутоиммунным заболеванием; воспалительного расстройства; наследственной недостаточности CD59; повреждений, вызванных инертной пылью и/или минералами; интерлейкин-2-индуцированной токсичности во время IL-2 терапии; ишемически-реперфузионного повреждения; болезни Кавасаки; легочного заболевания или расстройства; волчаночного нефрита; мембранопролиферативного гломерулонефрита; мембранопролиферативного нефрита; реперфузии брыжеечной артерии после реконструкции аорты; мезентериального/энтерального сосудистого расстройства; мультифокальной моторной нейропатии (MMN); рассеянного склероза; тяжелой миастении; инфаркта миокарда; миокардита; неврологического расстройства; оптиконевромиелита; ожирения; глазного ангиогенеза; глазной неоваскуляризации, поражающей хориоидею; болезни, вызванной органической пылью; паразитарного заболевания; болезни Паркинсона; пароксизмальной ночной гемоглобинурии (PNH); пауци-иммунного васкулита; пузырчатки; чрескожной транслюминальной коронарной ангиопластики (PTCA); расстройства периферических сосудов; пневмонии; состояния постишемической реперфузии; постгемодиализного синдрома при сердечно-легочном шунтировании; постгемодиализного синдрома при почечном шунтировании; прогрессирующей почечной недостаточности; пролиферативного нефрита; протеинурического заболевания почек; псориаза; легочной эмболии; легочного фиброза; инфаркта легкого; легочного васкулита; рецидивирующей потери плода; заболевания почек; почечной ишемии; почечного ишемически-реперфузионного повреждения; реноваскулярного расстройства; рестеноза после установки стента; ревматоидного артрита; ротационной атерэктомии; шизофрении;

сепсиса; септического шока; волчаночного нефрита; поражения дымом; повреждения спинного мозга; спонтанной потери плода; инсульта; системной воспалительной реакции на сепсис; системной красной волчанки (SLE); васкулита, ассоциированного с системной красной волчанкой; болезни Такаясу; термической травмы; тромботической тромбоцитопенической пурпуры (ТТП); черепно-мозговой травмы; диабета I типа; типичного гемолитико-уремического синдрома; увеита; васкулита; васкулита, ассоциированного с ревматоидным артритом; венозной газовой эмболии (VGE); и отторжения ксенотрансплантата.

50. Способ снижения активности комплемента в организме субъекта, нуждающегося в этом, включающий введение субъекту терапевтически эффективного количества фармацевтической композиции и/или внутривенной композиции по любому из пп. 1-24, 26-31, 33 или 35; и, необязательно, дополнительного терапевтического средства.

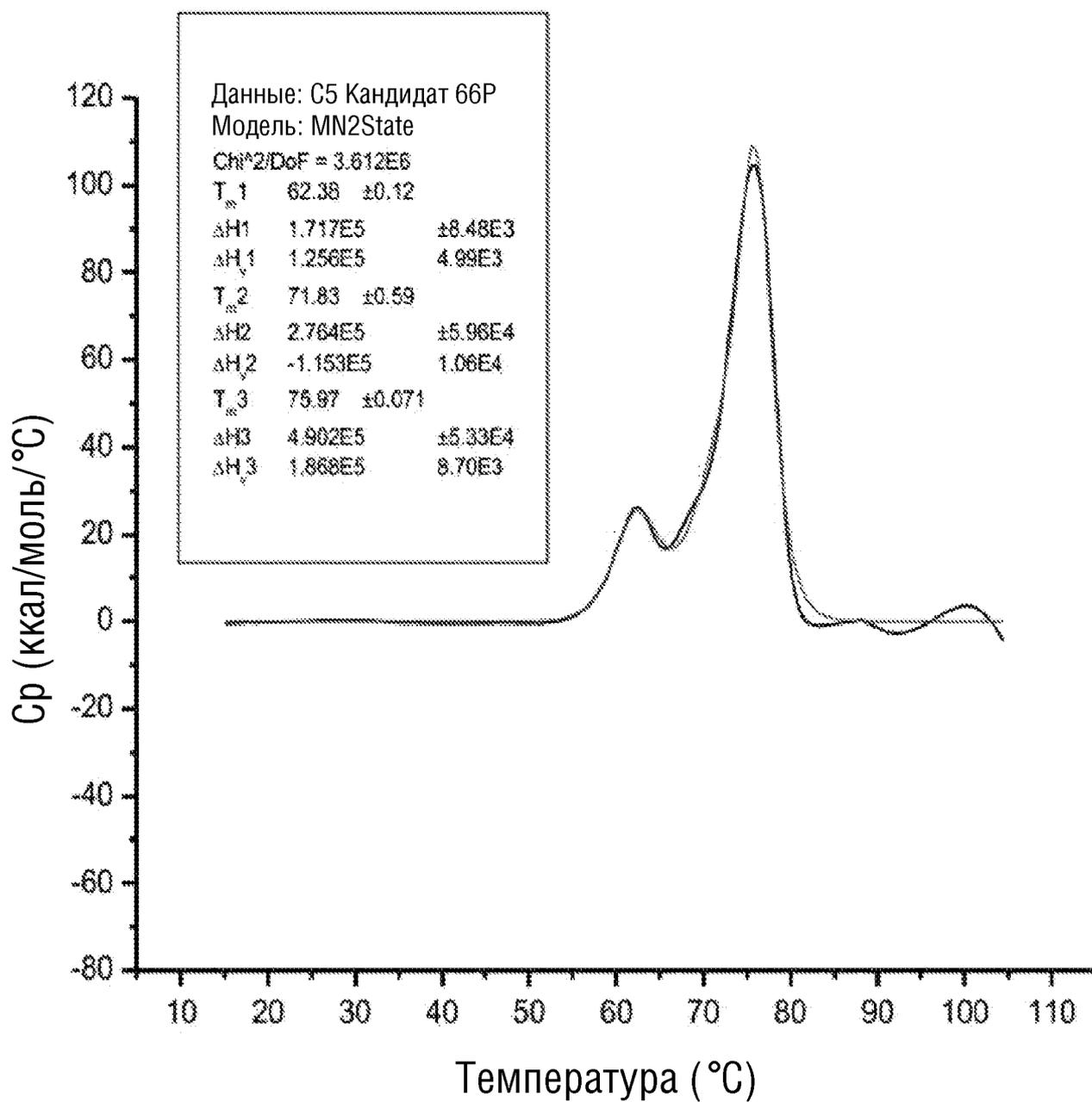
51. Способ по п. 50, где фармацевтическую композицию и/или внутривенную композицию вводят отдельно от дополнительного терапевтического средства.

52. Способ переключения терапевтических схем для лечения или профилактики С5-ассоциированного заболевания, включающий прекращение введения первого терапевтического средства и затем введение субъекту терапевтически эффективного количества фармацевтической композиции и/или внутривенной композиции по любому из пп. 1-24, 26-31, 33 или 35 и, необязательно, дополнительного терапевтического средства, где указанная фармацевтическая композиция и/или внутривенная композиция включает анти-С5 антигенсвязывающий белок, который отличается от белка первого терапевтического средства.

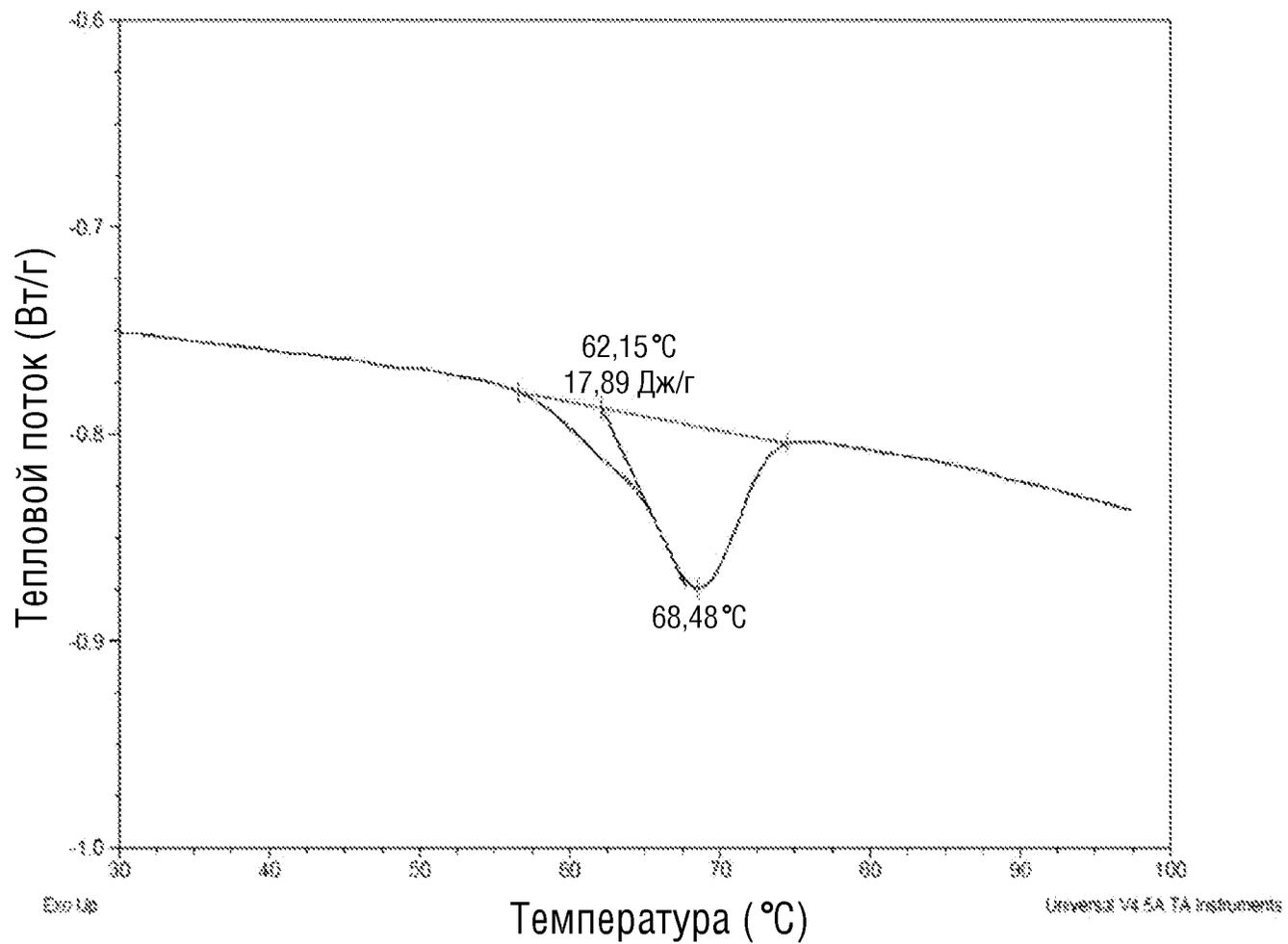
53. Способ по п. 52, где фармацевтическую композицию и/или внутривенную композицию вводят отдельно от дополнительного терапевтического средства.

54. Способ по любому из пп. 52-53, где первое терапевтическое средство представляет собой тезидолумаб, кровалимаб, экулизумаб или равулизумаб.

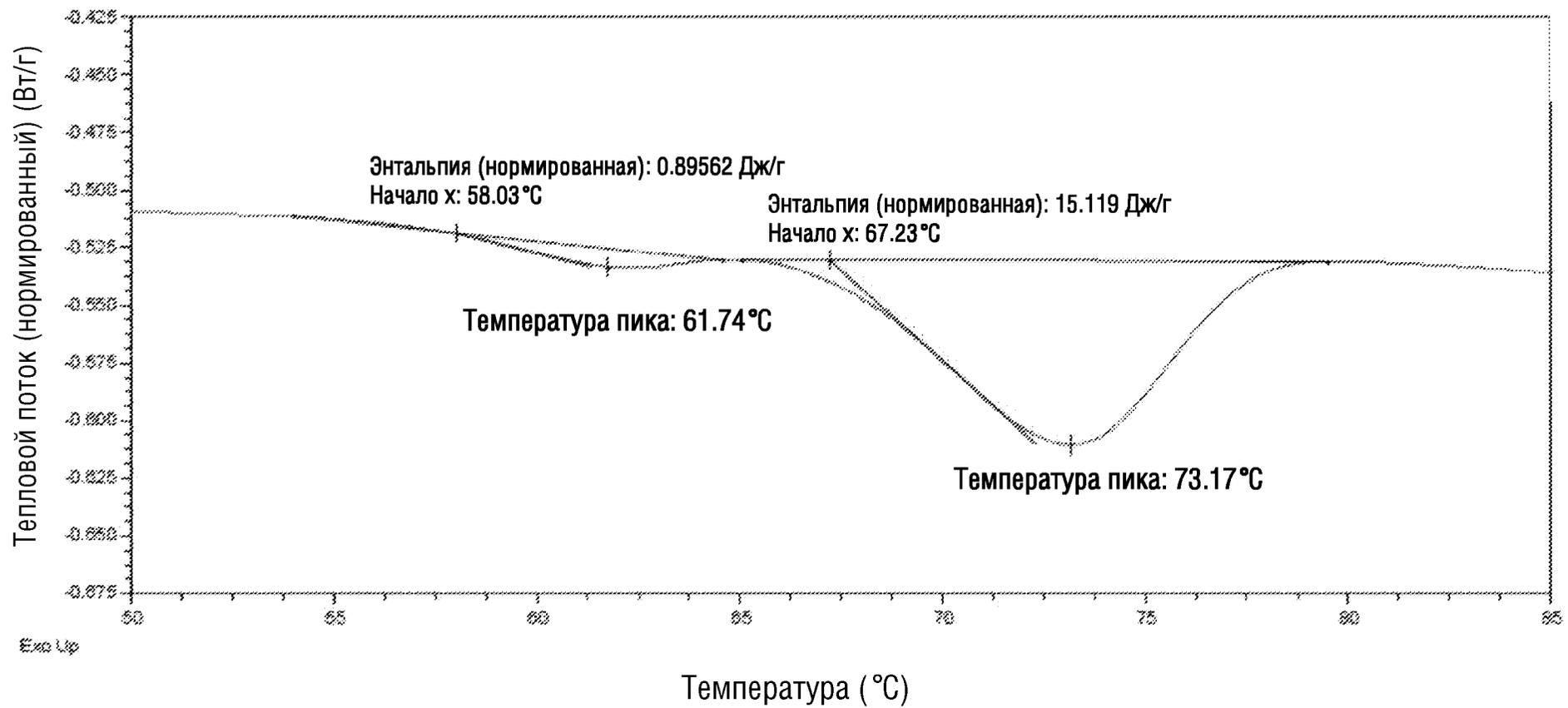
ФИГ.1



ФИГ.2

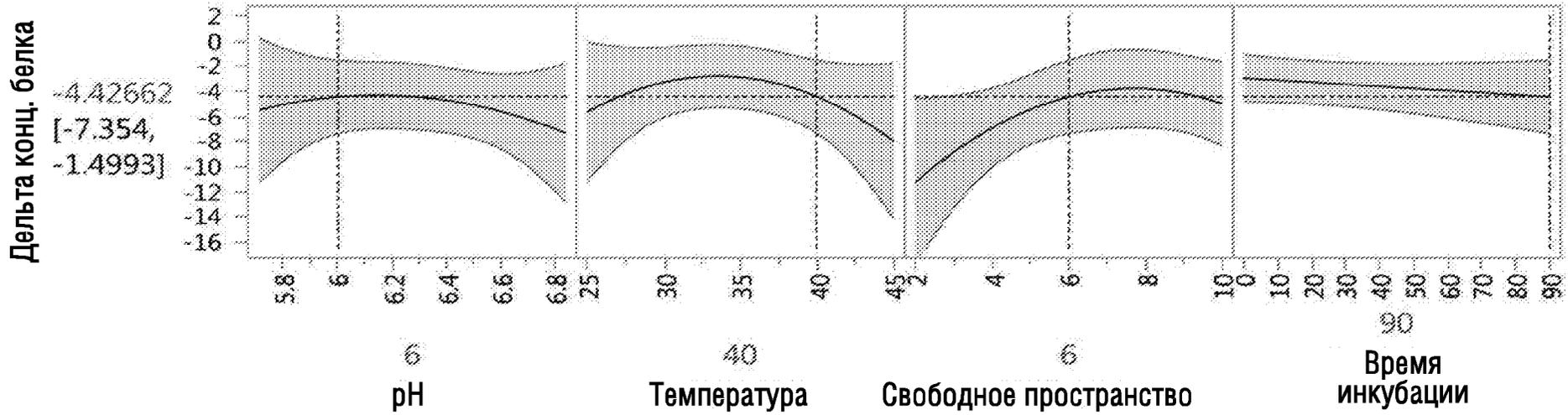


ФИГ.3





ФИГ.4В

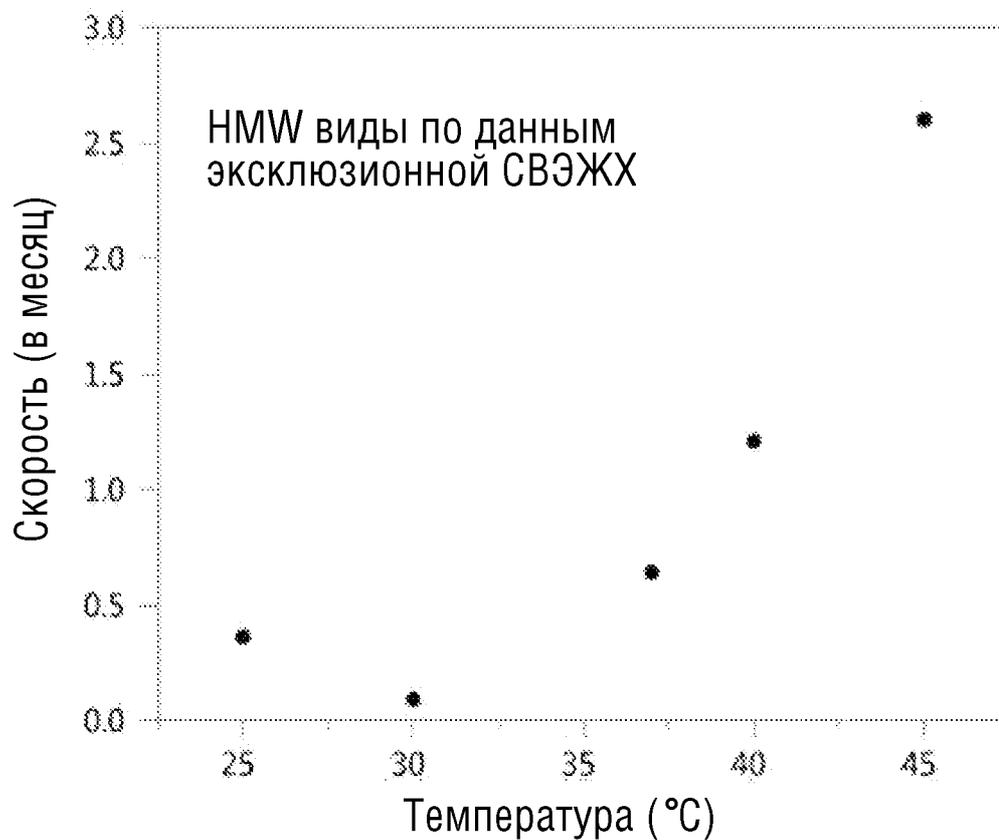


5/17

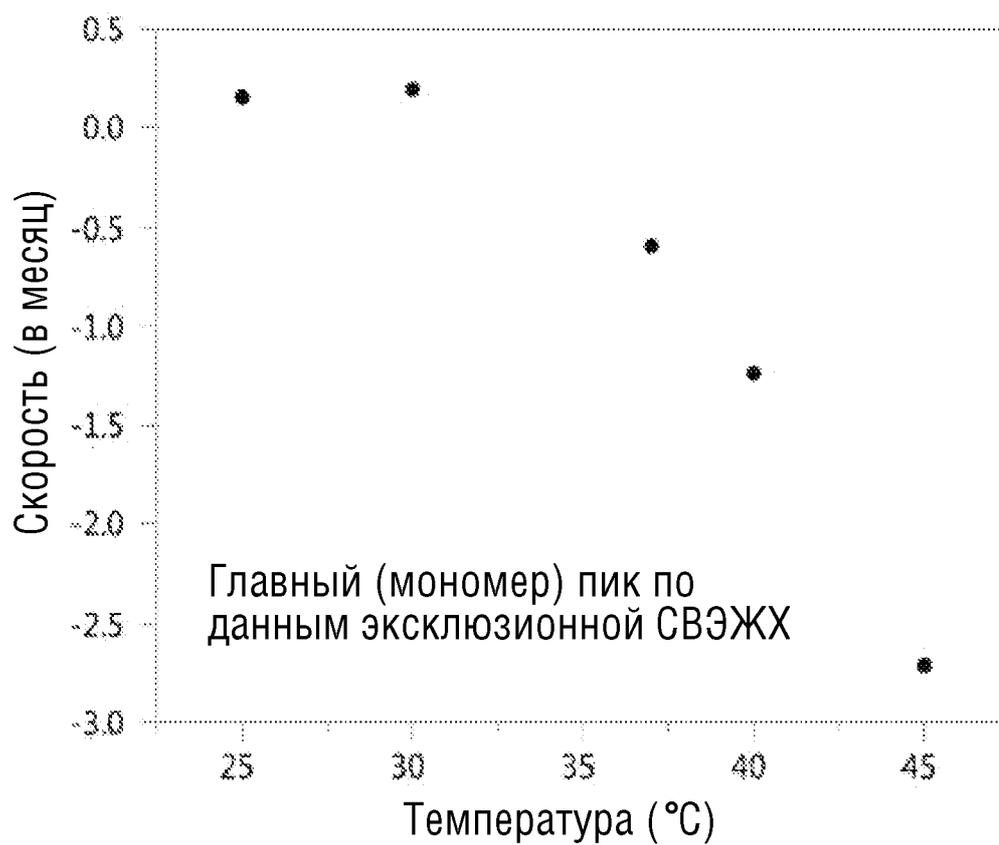
Испытания для определения эффекта на изменение концентрации белка

Источник	Num	DF	Сумма квадратов	F-коэффициент	Prob > F
Свободное пространство(2,10)	1	1	28.270809	3.8869	0.0534
Свободное пространство*Свободное пространство	1	1	25.175461	3.4613	0.0678

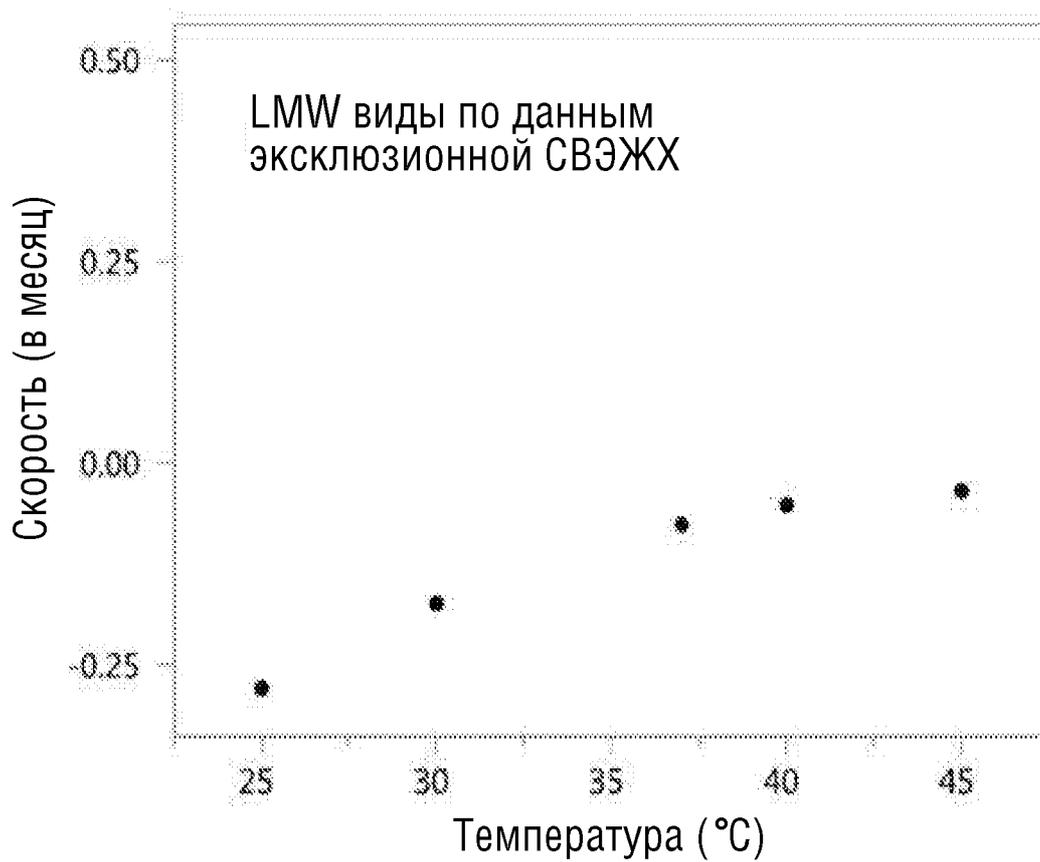
ФИГ.5А



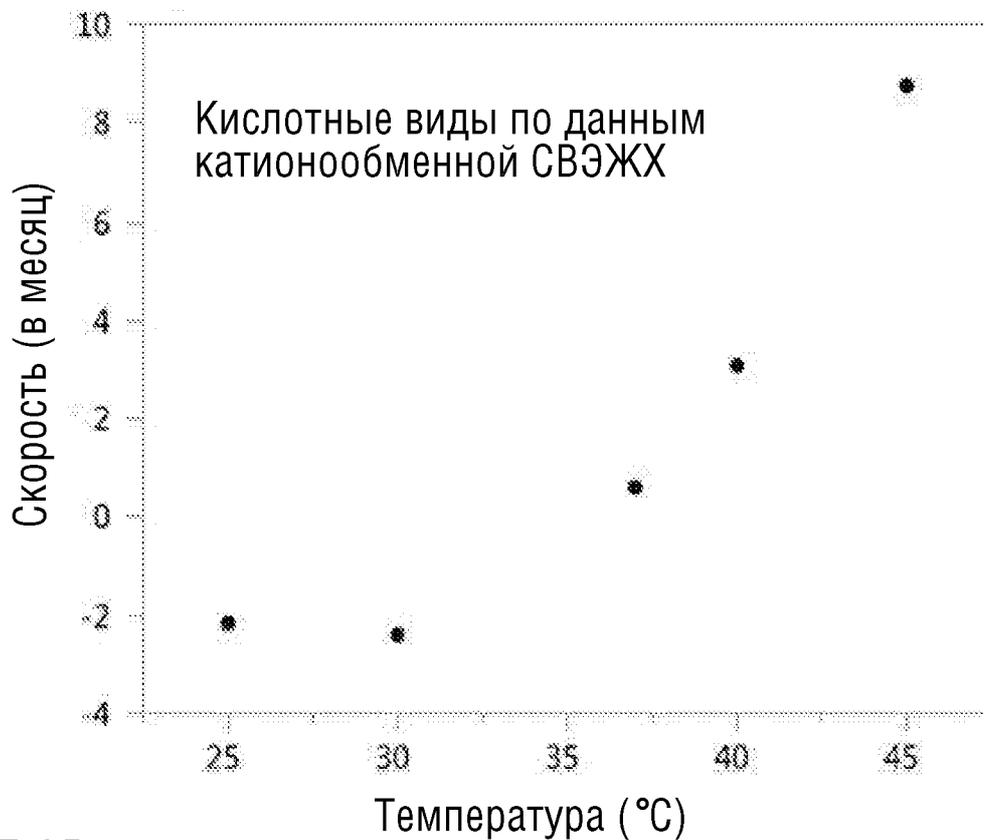
ФИГ.5В



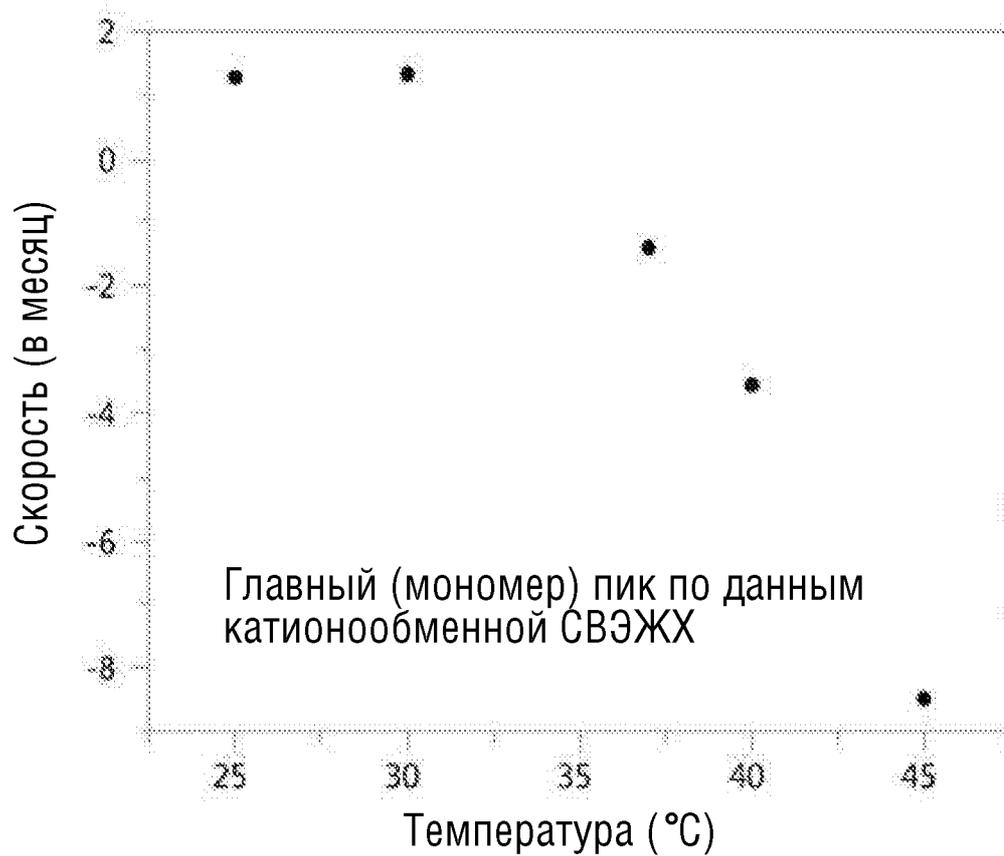
ФИГ.5С



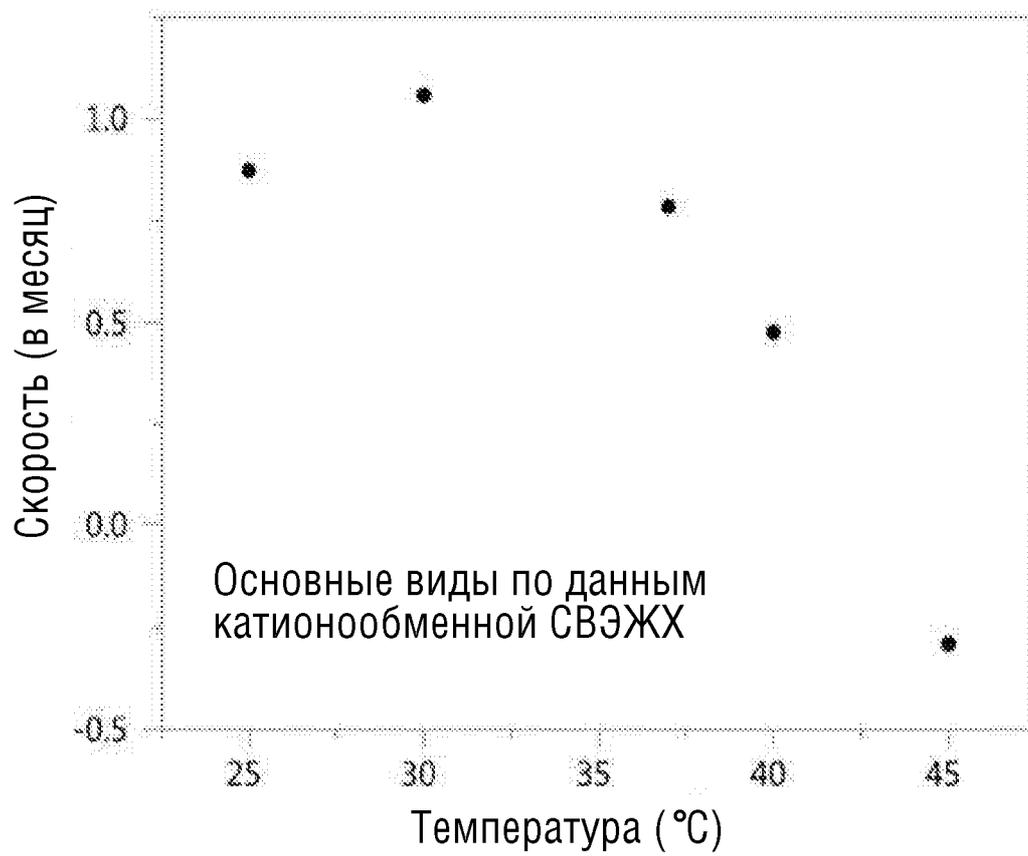
ФИГ.6А



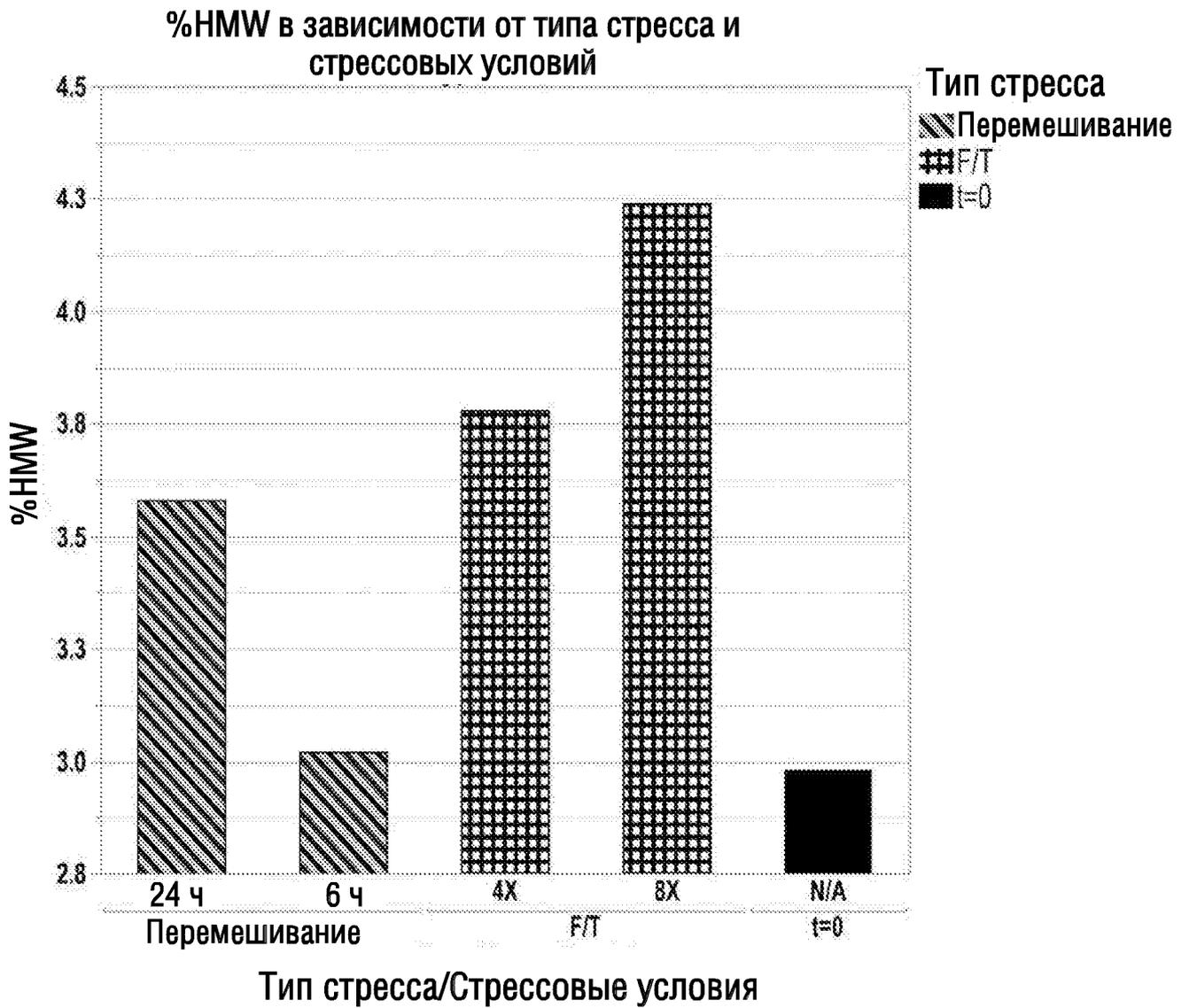
ФИГ.6В



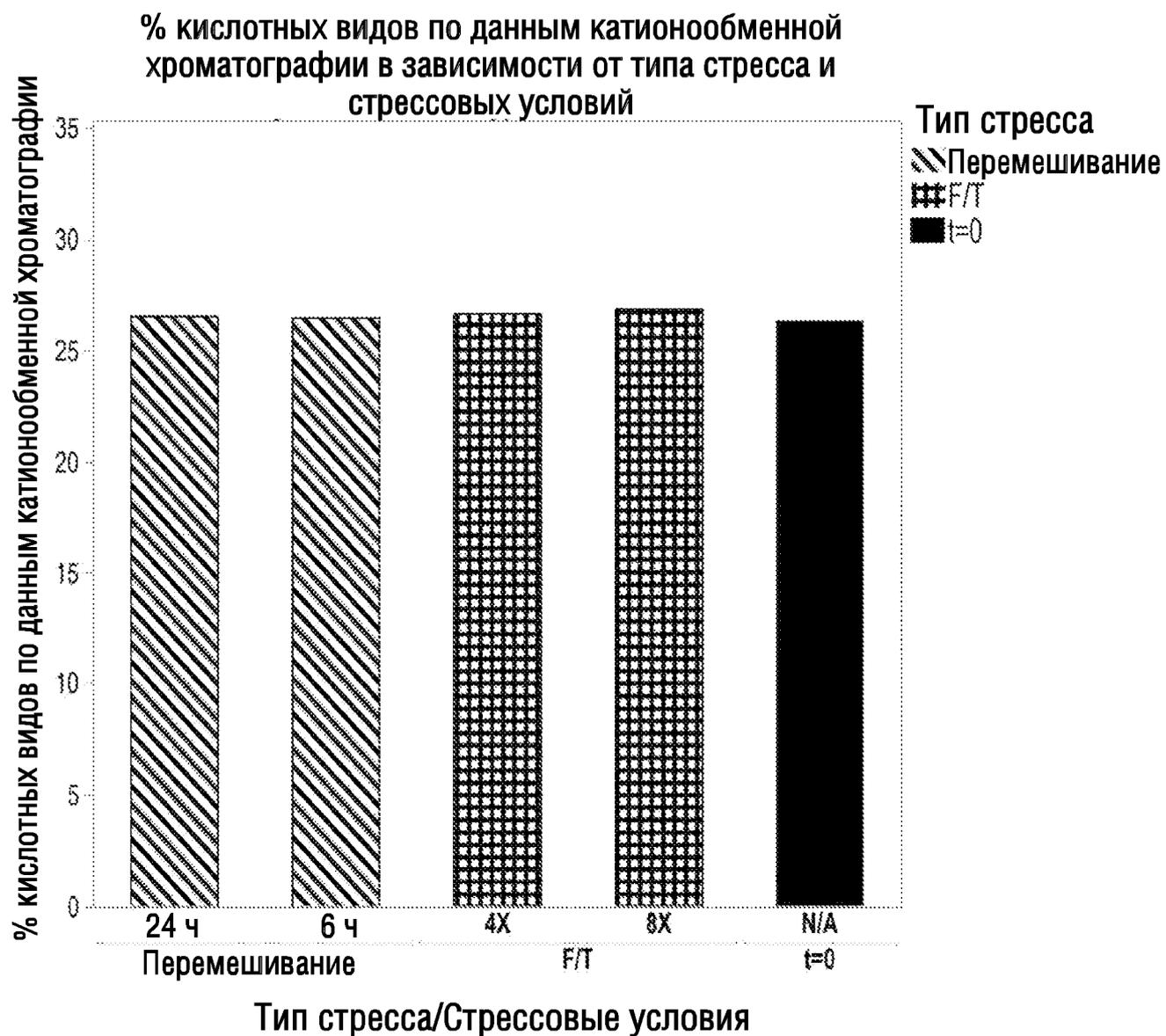
ФИГ.6С



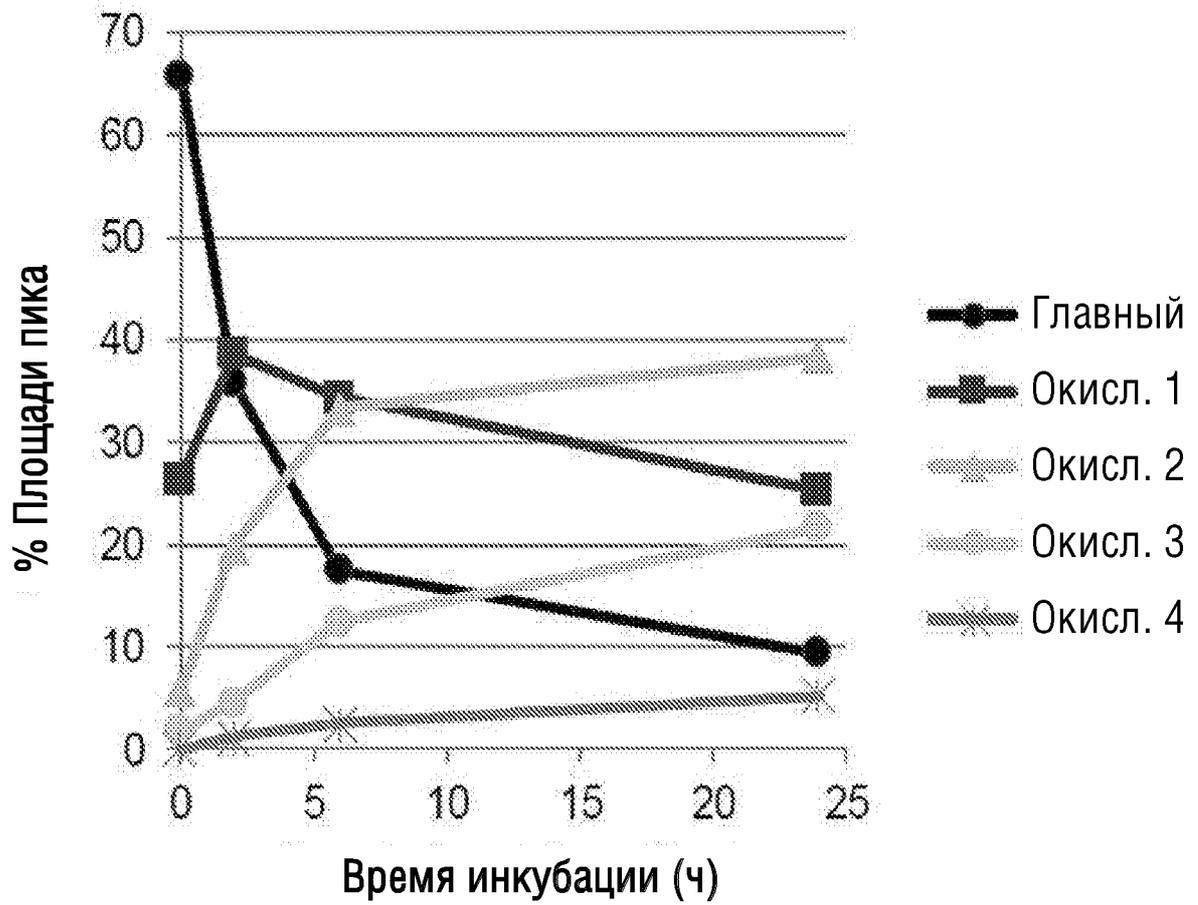
ФИГ.7



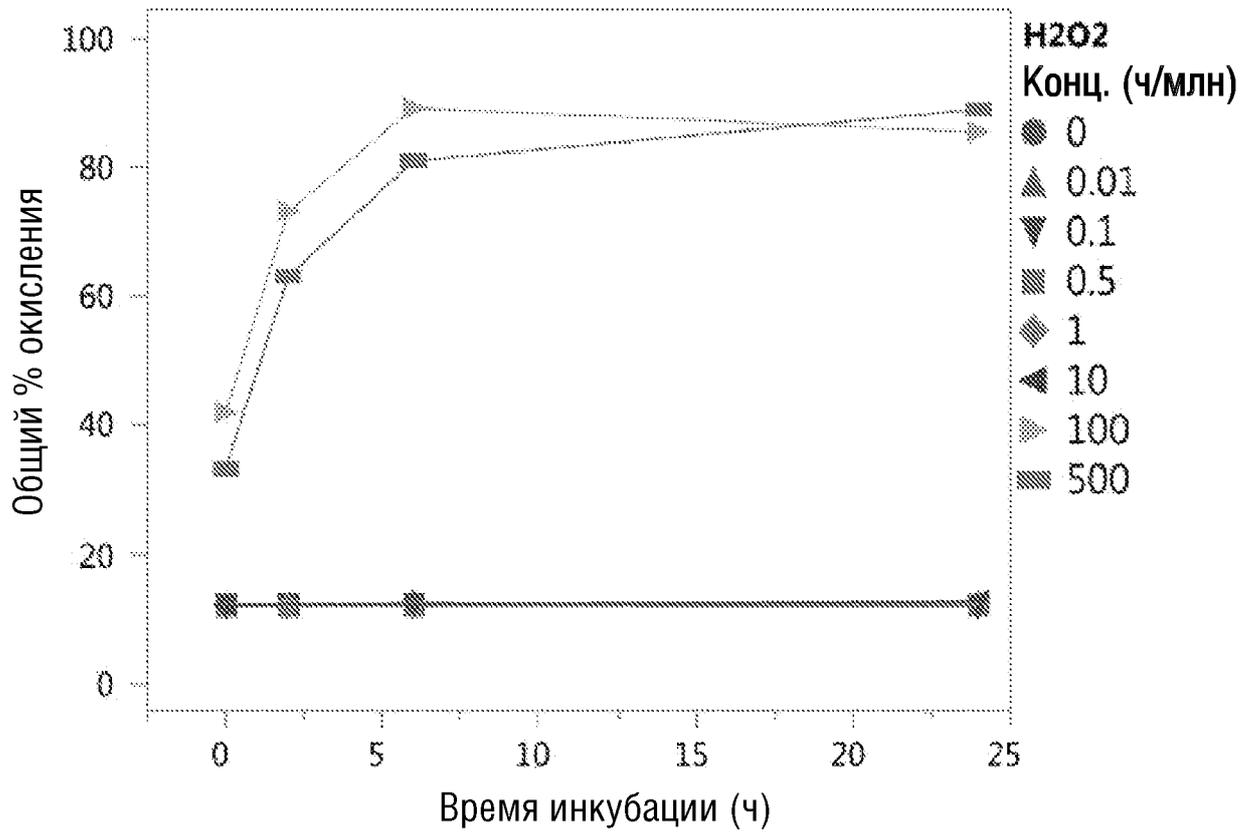
ФИГ.8



ФИГ.9



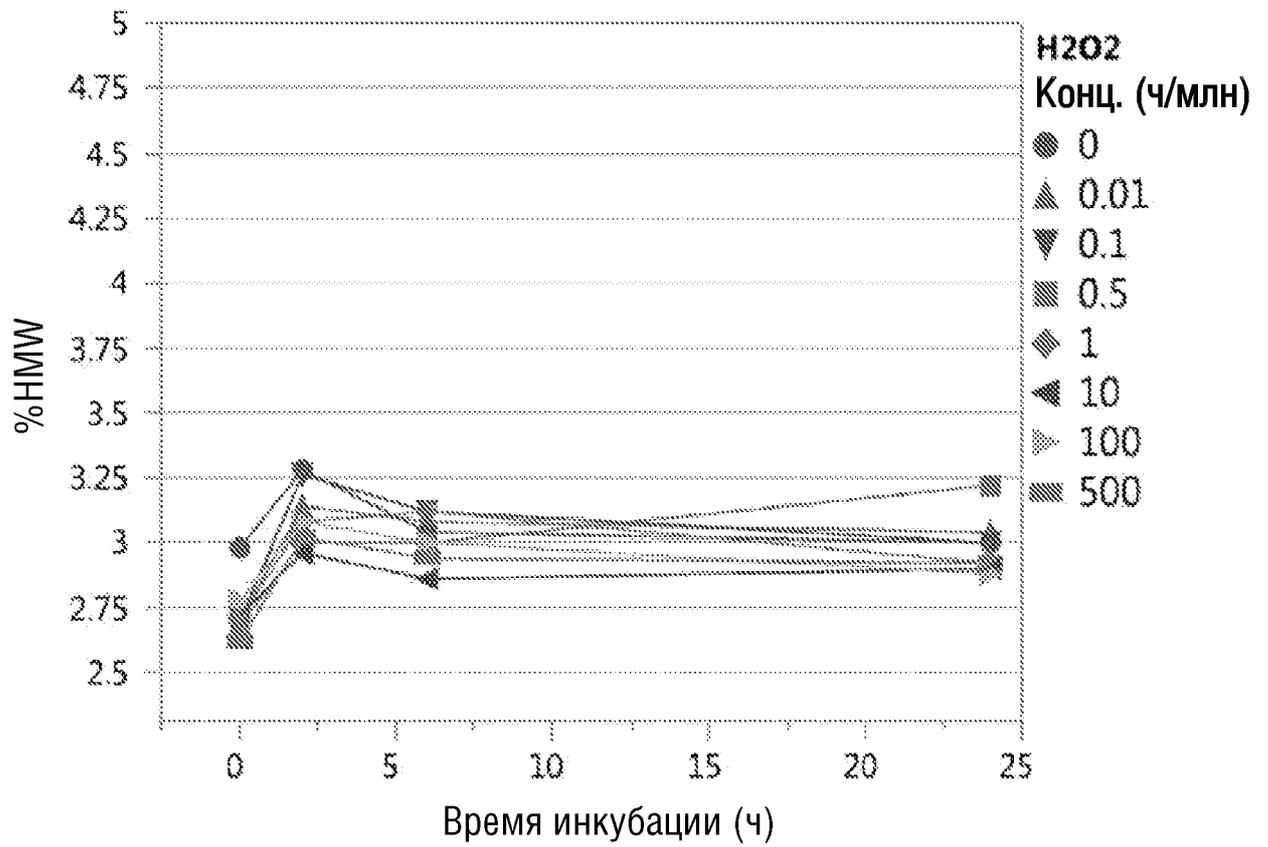
ФИГ.10







ФИГ.13



## ФИГ.14

[Гистидин] мМ	[Пролин] % (масс/об)	[Сахароза] % (масс/об)	[Arg-HCl] мМ	[PS80] % (масс/об)	[REGN3918] мг/мл	рН
5	2.5	5	150	0.2	200	5.7
20	5	10	150	0.02	135	5.7
5	0	5	75	0.02	160	6.2
40	5	0	0	0.02	120	6.8
40	0	0	0	0.02	120	5.7
5	2.5	10	0	0.2	160	6.8
40	5	0	150	0.02	120	5.7
5	0	0	0	0.2	200	5.7
20	5	10	0	0.2	200	6.2
40	0	0	150	0.02	120	6.8
5	5	0	150	0.2	200	6.2
20	5	5	150	0.2	120	6.8
5	0	10	0	0.2	120	5.7
5	0	0	0	0.2	120	6.8
5	0	0	150	0.2	120	5.7
40	5	0	0	0.2	175	5.7
5	0	10	150	0.2	200	6.8
40	0	10	0	0.02	185	5.7
40	0	10	150	0.2	120	5.7
40	0	10	0	0.02	120	6.8
5	5	0	0	0.02	120	5.7
40	5	10	150	0.02	170	6.8
40	5	10	0	0.02	120	5.7
5	2.5	10	150	0.02	120	6.2
5	5	10	75	0.2	200	5.7
5	5	10	75	0.2	120	6.8
5	5	0	150	0.2	160	6.8
20	2.5	0	75	0.02	200	6.8
35	0	0	150	0.02	170	5.7
40	0	0	0	0.2	183	6.8
5	5	5	0	0.02	200	6.8
40	2.5	5	75	0.2	160	6.2
40	0	0	0	0.02	187	5.7
20	0	2	100	0.15	200	5.8
20	0	2	100	0.15	274	5.8
16-24	0	1.6-2.4	80-120	0.075- 0.225	180-210	5.5-6.1