

(19)



**Евразийское  
патентное  
ведомство**

(11) **045460**

(13) **B1**

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

- |                                       |               |                              |
|---------------------------------------|---------------|------------------------------|
| (45) Дата публикации и выдачи патента | (51) Int. Cl. | <i>A61K 9/08</i> (2006.01)   |
| <b>2023.11.28</b>                     |               | <i>A61K 39/00</i> (2006.01)  |
| (21) Номер заявки                     |               | <i>A61K 39/395</i> (2006.01) |
| <b>201892653</b>                      |               | <i>A61K 47/10</i> (2017.01)  |
| (22) Дата подачи заявки               |               | <i>A61K 47/14</i> (2017.01)  |
| <b>2017.06.28</b>                     |               | <i>A61K 47/26</i> (2006.01)  |
|                                       |               | <i>A61K 9/00</i> (2006.01)   |

---

(54) **СТАБИЛЬНЫЙ ЖИДКИЙ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ СОСТАВ**

---

- |   |   |
|---|---|
| (31) <b>10-2016-0083039</b>             | (56) WO-A1-2015177057                   |
| (32) <b>2016.06.30</b>                  | NCBI, PDB: 4G3Y_L (07 August 2013.) See |
| (33) <b>KR</b>                          | ORIGIN.                                 |
| (43) <b>2019.05.31</b>                  | NCBI, PDB: 4G3Y_H (07 August 2013.) See |
| (86) <b>PCT/KR2017/006855</b>           | ORIGIN.                                 |
| (87) <b>WO 2018/004260 2018.01.04</b>   | WO-A1-2013164837                        |
| (71)(73) Заявитель и патентовладелец:   | WO-A2-2006044908                        |
| <b>СЕЛЛТРИОН ИНК. (KR)</b>              |   |
| (72) Изобретатель:                      |   |
| <b>Ли Чжу Вон, Хан Вон Йон, Ким Су</b>  |   |
| <b>Юнг, Ох Чжун Сок, Ким Со Ён, Хон</b> |   |
| <b>Су Хён, Схин Ён Кён (KR)</b>         |   |
| (74) Представитель:                     |   |
| <b>Носырева Е.Л. (RU)</b>               |   |

- 
- (57) Настоящее изобретение предусматривает стабильный жидкий фармацевтический состав, содержащий антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, поверхностно-активное вещество, сахар или его производное и буфер. Стабильный жидкий фармацевтический состав в соответствии с настоящим изобретением характеризуется низкой вязкостью, при этом характеризуется высоким содержанием антитела, характеризуется превосходной стабильностью при длительном хранении на основании высокой стабильности в условиях ускоренной деградации и жестких условиях и может быть введен подкожно.

**B1**

**045460**

**045460**  
**B1**

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

Настоящее изобретение относится к стабильному жидкому фармацевтическому составу.

#### **Описание известного уровня техники**

Фактор некроза опухоли- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) является клеточным сигнальным белком (цитокином), который вовлечен в системное воспаление и является цитокином, который опосредует ответы острой фазы. TNF- $\alpha$  связан с различными заболеваниями и нарушениями, в том числе с септициемией, инфекцией, аутоиммунными заболеваниями и отторжением трансплантата. TNF- $\alpha$  стимулирует иммунные ответы и вызывает многие клинические проблемы, ассоциированные с аутоиммунными патологиями, такими как ревматоидный артрит, анкилозирующий спондилит, язвенный колит, болезнь Крона взрослых, педиатрическая болезнь Крона, псориаз, псориатический артрит и т.п. Такие патологии можно лечить с применением ингибиторов TNF- $\alpha$ .

Инфликсимаб представляет собой вид химерного моноклонального антитела, которое может действовать как ингибитор TNF- $\alpha$ . Традиционные составы, содержащие данное антитело, получают в виде лиофилизированных порошков, которые восстанавливают, разбавляют и вводят инъекцией внутривенно с использованием режима дозирования, определяемого в соответствии с каждым заболеванием.

Например, на этикетке Remicade приведена информация о лиофилизированном составе, содержащем инфликсимаб, сахарозу, полисорбат 80 и фосфат натрия. Для внутривенной инъекции на ней приведена информация о стадии восстановления путем добавления воды для инъекций в лиофилизированный состав и стадии разбавления восстановленного состава инъекционным солевым раствором, содержащим хлорид натрия.

Однако способ введения традиционного состава, описываемый выше (лиофилизация  $\rightarrow$  восстановление  $\rightarrow$  разбавление  $\rightarrow$  внутривенное введение), имеет проблемы, заключающиеся в его стоимости, сложности и причинении пациенту дискомфорта из-за частого введения, отторжения и побочных эффектов, а также в том, что человек, который вводит состав, должен иметь медицинское образование.

Адалimumаб также представляет собой вид человеческого моноклонального антитела, которое может действовать как ингибитор TNF- $\alpha$ . Жидкий состав, содержащий адалimumаб, раскрывается, например, на этикетке Humira. Более того, в публикации заявки на выдачу патента Кореи № 10-2014-0134689 раскрывается жидкий состав, содержащий адалimumаб, фосфат натрия, цитрат натрия, лимонную кислоту, маннит, хлорид натрия и полисорбат 80 (пример 1), и улучшенный жидкий состав, содержащий адалimumаб, фосфат натрия, цитрат натрия, лимонную кислоту, маннит, аргинин, хлорид натрия и полисорбат 80 (пример 2).

Однако в случае описываемых выше жидких фармацевтических составов, содержащих NaCl или KCl в качестве изотонического средства, могут возникать проблемы, такие как осаждение и желатинизация, и, если концентрация антитела составляет не выше приблизительно 50 мг/мл, то частота введения и цикл введения могут быть ограничены.

Следовательно, существует потребность в стабильном жидком фармацевтическом составе, который может преодолеть проблемы описанных выше традиционных жидких фармацевтических составов, и который содержит антитело, в частности, инфликсимаб, в качестве ингибитора TNF- $\alpha$ .

#### **Раскрытие**

##### **Техническая задача**

Целью настоящего изобретения является обеспечение стабильного жидкого фармацевтического состава, характеризующегося низкой вязкостью и характеризующегося при этом высоким содержанием антитела.

Другая цель настоящего изобретения заключается в обеспечении жидкого фармацевтического состава, характеризующегося превосходной стабильностью при длительном хранении на основании высокой стабильности в условиях ускоренной деградации и жестких условиях.

Еще одной целью настоящего изобретения является обеспечение стабильного жидкого фармацевтического состава, который можно вводить подкожно.

##### **Решение технической задачи**

Стабильный жидкий фармацевтический состав в соответствии с одним вариантом осуществления настоящего изобретения содержит (A) инфликсимаб; (B) 0,001-5% (вес./об.) поверхностно-активного вещества; (C) 0,1-30% (вес./об.) одного или более, выбранного из группы, состоящей из сорбита, маннита, сахарозы и трегалозы; и (D) 1-50 мМ буфера, содержащего ацетат или гистидин.

В одном варианте осуществления настоящего изобретения инфликсимаб (A) может содержаться в концентрации 10-200 мг/мл.

В одном варианте осуществления настоящего изобретения поверхностно-активное вещество (B) может включать полисорбат, полоксамер или их смесь.

В одном варианте осуществления настоящего изобретения поверхностно-активное вещество (B) может включать полисорбат 20, полисорбат 40, полисорбат 60, полисорбат 80 или смесь двух или более из них.

В одном варианте осуществления настоящего изобретения поверхностно-активное вещество (B) может включать полисорбат 80.

В одном варианте осуществления настоящего изобретения поверхностно-активное вещество (B) может содержаться в концентрации 0,02-0,1% (вес./об.).

В одном варианте осуществления настоящего изобретения одно или более, выбранное из группы, состоящей из сорбита, маннита, сахарозы и трегалозы (C), может содержаться в концентрации 1-10% (вес./об.).

В одном варианте осуществления настоящего изобретения состав может иметь pH 4,0-5,5.

В одном варианте осуществления настоящего изобретения состав может характеризоваться вязкостью от 0,5 до 10 сП при измерении после 1 месяца хранения при  $40^{\circ}\text{C}\pm 2^{\circ}\text{C}$  или вязкостью от 0,5 до 5 сП при измерении после 6 месяцев хранения при  $5^{\circ}\text{C}\pm 3^{\circ}\text{C}$ .

Стабильный жидкий фармацевтический состав в соответствии с одним вариантом осуществления настоящего изобретения может содержать (A) 90-145 мг/мл инфликсимаба; (B) 0,02-0,1% (вес./об.) поверхностно-активного вещества; (C) 1-10% (вес./об.) одного или более, выбранного из группы, состоящей из сорбита, маннита, сахарозы и трегалозы; и (D) 1-50 мМ буфера, содержащего ацетат или гистидин.

В одном варианте осуществления настоящего изобретения стабильный жидкий фармацевтический состав может предназначаться для подкожного введения.

Предварительно заполненный шприц в соответствии с одним вариантом осуществления настоящего изобретения заполняют стабильным жидким фармацевтическим составом.

Автоматическое устройство для инъекций в соответствии с одним вариантом осуществления настоящего изобретения включает предварительно заполненный шприц.

#### Преимущественные эффекты

Стабильный жидкий фармацевтический состав в соответствии с настоящим изобретением характеризуется низкой вязкостью, при этом характеризуется высоким содержанием антитела, характеризуется превосходной стабильностью при длительном хранении на основании высокой стабильности в условиях ускоренной деградации и жестких условиях, и может быть введен подкожно.

#### Описание конкретных вариантов осуществления

Стабильный жидкий фармацевтический состав.

Стабильный жидкий фармацевтический состав в соответствии с настоящим изобретением содержит (A) антитело или его антигенсвязывающий фрагмент; (B) поверхностно-активное вещество; (C) сахар или его производное и (D) буфер.

Используемый в данном документе термин "не содержащий" означает, что состав совершенно не содержит соответствующего компонента. Кроме того, данный термин означает, что состав практически не содержит соответствующего компонента, то есть содержит соответствующий компонент в количестве, которое не влияет на активность антитела, а также на стабильность и вязкость жидкого фармацевтического состава. Например, термин означает, что состав содержит соответствующий компонент в количестве 0-1% (вес./об.), 0-1 ppm (вес./об.) или 0-1 ppb (вес./об.), исходя из общего веса жидкого фармацевтического состава.

(A) Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент.

Термин "антитело" относится к молекулам иммуноглобулина, состоящим из четырех полипептидных цепей: двух тяжелых цепей и двух легких цепей, соединенных между собой дисульфидными связями. Другие встречающиеся в природе антитела, имеющие измененную структуру, например, антитела верблюда, также включены в данное определение. Каждая тяжелая цепь состоит из вариабельной области тяжелой цепи и константной области тяжелой цепи. Константная область тяжелой цепи состоит из трех доменов (CH1, CH2 и CH3). Каждая легкая цепь состоит из вариабельной области легкой цепи и константной области легкой цепи. Константная область легкой цепи состоит из одного домена (CL). Вариабельная область тяжелой цепи и вариабельная область легкой цепи дополнительно могут быть подразделены на области гипервариабельности, называемые определяющими комплементарность областями (CDR), чередующиеся с областями, которые являются более консервативными, называемые каркасными областями (FR). Каждая из вариабельной области тяжелой цепи и вариабельной области легкой цепи состоит из трех CDR и четырех FR, которые расположены от amino-конца до карбокси-конца в следующем порядке: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4.

В одном варианте осуществления настоящего изобретения фармацевтический состав может содержать в качестве антитела поликлональное антитело, моноклональное антитело, рекомбинантное антитело, одноцепочечное антитело, гибридное антитело, химерное антитело, гуманизированное антитело или их фрагмент. Термин "химерное антитело" относится к антителу, содержащему последовательности вариабельной области тяжелой цепи и легкой цепи от одного вида и последовательности константной области от другого вида. В одном варианте осуществления настоящего изобретения фармацевтический состав может содержать в качестве антитела химерное IgG-моноклональное антитело на основе человеческих и мышиных областей. Химерное моноклональное IgG-антитело на основе человеческих и мышиных областей, состоит из мышиных вариабельных областей тяжелой цепи и легкой цепи и связанных с ними человеческих константных областей тяжелой цепи и легкой цепи. Химерное моноклональное IgG-антитело на основе человеческих и мышиных областей, можно получить в соответствии со способом,

известным из уровня техники. Например, инфликсимаб можно получить в соответствии со способом, описанным в патенте США № 6284471.

В одном варианте осуществления настоящего изобретения фармацевтический состав может содержать в качестве антитела антитело, которое связывается с TNF- $\alpha$  или эпитопом в TNF- $\alpha$ . Антитело, которое связывается с TNF- $\alpha$  или эпитопом в TNF- $\alpha$ , может включать инфликсимаб, адалимумаб, цертолизумаб пегол, голимумаб или их смесь. В одном варианте осуществления настоящего изобретения антитело может включать инфликсимаб.

В одном варианте осуществления настоящего изобретения антитело или его антигенсвязывающий фрагмент (A) могут содержать переменную область легкой цепи, содержащую домен CDR1, который содержит аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 1, домен CDR2, который содержит аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 2, и домен CDR3, который содержит аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 3; и переменную область тяжелой цепи, содержащую домен CDR1, который содержит аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 4, домен CDR2, который содержит аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 5, и домен CDR3, который содержит аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 6.

В одном варианте осуществления настоящего изобретения антитело или его антигенсвязывающий фрагмент (A) могут содержать переменную область легкой цепи, имеющую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 7; и переменную область тяжелой цепи, имеющую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 8.

В одном варианте осуществления настоящего изобретения антитело или его антигенсвязывающий фрагмент (A) могут содержать легкую цепь, имеющую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 9; и тяжелую цепь, имеющую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 10.

Концентрацию антитела или его антигенсвязывающего фрагмента можно свободно контролировать в диапазоне, который практически не оказывает отрицательного воздействия на стабильность и вязкость стабильного жидкого фармацевтического состава в соответствии с настоящим изобретением. В одном варианте осуществления настоящего изобретения концентрация антитела или его антигенсвязывающего фрагмента может составлять 10-200 мг/мл. В другом варианте осуществления настоящего изобретения концентрация антитела или его антигенсвязывающего фрагмента может составлять 50-200 мг/мл. В еще одном варианте осуществления настоящего изобретения концентрация антитела или его антигенсвязывающего фрагмента может составлять 80-150 мг/мл. В еще одном варианте осуществления настоящего изобретения концентрация антитела или его антигенсвязывающего фрагмента может составлять 90-145 мг/мл. В еще одном другом варианте осуществления настоящего изобретения концентрация антитела или его антигенсвязывающего фрагмента может составлять 110-130 мг/мл. Если концентрация антитела или его антигенсвязывающего фрагмента находится в описанном выше диапазоне, то высокое содержание антитела или его антигенсвязывающего фрагмента позволяет увеличить степень свободы дозы и цикла введения, и фармацевтический состав может проявлять превосходную долгосрочную стабильность и низкую вязкость.

(B) Поверхностно-активное вещество.

Примеры поверхностно-активного вещества включают без ограничения сложный полиоксиэтиленовый эфир сорбита и жирной кислоты (например, полисорбат), полиоксиэтиленалкиловый эфир (например, Brij), алкилпентилполиоксиэтиленовый эфир (например, Triton-X), сополимеры полиоксиэтилена и полиоксипропилена (например, поллоксамер, Pluronic), додецилсульфат натрия (SDS) и т.п.

В одном варианте осуществления настоящего изобретения поверхностно-активное вещество может включать сложный полиоксиэтиленовый эфир сорбита и жирной кислоты (полисорбат). Полисорбат может включать полисорбат 20, полисорбат 40, полисорбат 60, полисорбат 80 или смесь двух или более из них. В одном варианте осуществления настоящего изобретения полисорбат может включать полисорбат 20, полисорбат 80 или их смесь. В другом варианте осуществления настоящего изобретения полисорбат может включать полисорбат 80.

В одном варианте осуществления настоящего изобретения концентрацию поверхностно-активного вещества свободно можно контролировать в диапазоне, который практически не оказывает отрицательного воздействия на стабильность и вязкость стабильного жидкого фармацевтического состава в соответствии с настоящим изобретением. Например, концентрация поверхностно-активного вещества может составлять 0,001-5% (вес./об.), 0,01-1% (вес./об.) или 0,02-0,1% (вес./об.). Если концентрация поверхностно-активного вещества находится в описанном выше диапазоне, то фармацевтическая композиция может демонстрировать превосходную долгосрочную стабильность и низкую вязкость.

(C) Сахар или его производное.

Сахар может включать моносахарид, дисахарид, олигосахарид, полисахарид или смесь двух или более из них. Примеры моносахарида включают без ограничения глюкозу, фруктозу, галактозу и т.п. Примеры дисахарида включают без ограничения сахарозу, лактозу, мальтозу, трегалозу и т.п. Примеры олигосахарида включают без ограничения фруктоолигосахариды, галактоолигосахариды, маннанолигосахариды и т.п. Примеры полисахарида включают без ограничения крахмал, гликоген, целлюлозу, хитин,

пектин и т.п.

Производное сахара может включать сахароспирт, сахарную кислоту или их смесь. Примеры сахароспирта включают без ограничения глицерин, эритрит, трейт, арабит, ксилит, рибит, маннит, сорбит, галактит, фуцит, идит, инозит, волемит, изомальт, мальтит, лактит, мальтотриит, мальтотетраит, полиглицит и т.п. Примеры сахарной кислоты включают без ограничения альдоновую кислоту (глицериновую кислоту и т.д.), улозоновую кислоту (нейраминовою кислоту и т.д.), уроновую кислоту (глюкуроновую кислоту и т.д.), альдаровую кислоту (винную кислоту и т.д.) и т.п.

В одном варианте осуществления настоящего изобретения сахар или его производное (С) могут включать сорбит, маннит, трегалозу, сахарозу или смесь двух или более из них.

В одном варианте осуществления настоящего изобретения концентрацию сахара или его производного можно свободно контролировать в диапазоне, который практически не оказывает отрицательного воздействия на стабильность и вязкость стабильного жидкого фармацевтического состава в соответствии с настоящим изобретением. Например, концентрация сахара или его производного может составлять 0,1-30% (вес./об.), 1-20% (вес./об.) или 1-10% (вес./об.). Если концентрация сахара или его производного может находиться в данном диапазоне, то фармацевтическая композиция может демонстрировать превосходную долгосрочную стабильность и низкую вязкость.

#### (D) Буфер.

Буфер, который используют в настоящем изобретении, представляет собой нейтрализующее вещество, которое минимизирует изменение рН, вызванное кислотой или щелочью. Примеры буфера включают фосфат, ацетат, сукцинат, глюконат, глутамат, цитрат, гистидин и т.п. В одном варианте осуществления настоящего изобретения буфер может содержать ацетат или гистидин. Если буфер содержит как ацетат, так и гистидин, то стабильность фармацевтического состава может быть снижена.

В одном варианте осуществления настоящего изобретения буфер может содержать ацетат. Примеры ацетата включают без ограничения ацетат натрия, ацетат цинка, ацетат алюминия, ацетат аммония, ацетат калия и т.п. Для регуляции рН буфер может дополнительно содержать кислоту, например, уксусную кислоту. Если буфер содержит ацетат, он может быть наиболее предпочтительным в отношении регуляции рН и стабильности.

В одном варианте осуществления настоящего изобретения буфер может содержать гистидин. Если буфер содержит гистидин, то он может содержать соль гистидина, например, хлорид гистидина, ацетат гистидина, фосфат гистидина, сульфат гистидина или подобное. Для регуляции рН буфер может содержать кислоту, например, хлористоводородную кислоту, уксусную кислоту, фосфорную кислоту, серную кислоту или подобное.

В одном варианте осуществления настоящего изобретения стабильный жидкий фармацевтический состав может не содержать цитрат, фосфат или их смесь.

В одном варианте осуществления настоящего изобретения концентрацию буфера (или аниона буфера) можно свободно контролировать в диапазоне, который практически не оказывает отрицательного воздействия на стабильность и вязкость стабильного жидкого фармацевтического состава в соответствии с настоящим изобретением. Например, концентрация буфера или его аниона может составлять 1-50 мМ, 5-30 мМ или 10-25 мМ. Если концентрация буфера или его аниона находится в данном диапазоне, то фармацевтическая композиция может демонстрировать превосходную долгосрочную стабильность и низкую вязкость.

#### (E) рН.

В одном варианте осуществления настоящего изобретения рН стабильной жидкой фармацевтической композиции может составлять 4,0-5,5 или 4,7-5,3. Если рН находится в данном диапазоне, то фармацевтическая композиция может демонстрировать превосходную долгосрочную стабильность и низкую вязкость. рН фармацевтического состава можно регулировать с использованием буфера. Другими словами, если фармацевтический состав содержит определенное количество буфера, то он может демонстрировать рН в описанном выше диапазоне без необходимости применения отдельного рН-регулирующего средства. Если в качестве буфера используют цитрат, фосфат или их смесь, то будет сложно получить рН в описанном выше диапазоне. Если фармацевтический состав дополнительно содержит кислоту (например, хлористоводородную кислоту) или основание (например, гидроксид натрия) в качестве отдельного рН-регулирующего средства, то стабильность антителя может быть снижена.

#### (F) Другие компоненты.

В одном варианте осуществления настоящего изобретения стабильный жидкий фармацевтический состав может не содержать аспарагиновую кислоту, лизин, аргинин или их смеси. Если стабильный жидкий фармацевтический состав содержит эти аминокислоты, то он может стать твердым. В одном варианте осуществления настоящего изобретения стабильный жидкий фармацевтический состав может содержать одну или несколько аминокислот, за исключением описанных выше трех аминокислот. В этом случае стабильный жидкий фармацевтический состав может содержать одну или несколько аминокислот в количестве 5% (вес./об.) или меньше, например, 0,001-5% (вес./об.), 0,001-1% (вес./об.), 0,01-5% (вес./об.), 0,01-1% (вес./об.), 0,1-5% (вес./об.) или 0,1-1% (вес./об.).

В другом варианте осуществления настоящего изобретения стабильный жидкий фармацевтический

состав может содержать таурин. В этом случае таурин может содержаться в количестве 5% (вес./об.) или меньше, например, 0,001-5% (вес./об.), 0,001-1% (вес./об.), 0,01-5% (вес./об.), 0,01-1% (вес./об.), 0,1-5% (вес./об.) или 0,1-1% (вес./об.).

В одном варианте осуществления настоящего изобретения стабильный жидкий фармацевтический состав может не содержать NaCl, KCl, NaF, KBr, NaBr, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, NaSCN, K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> или подобное в качестве соли металла. Если стабильный жидкий фармацевтический состав содержит эти соли металлов, то может происходить осаждение в составе, и состав может желатинизироваться и может характеризоваться плохой стабильностью.

В одном варианте осуществления настоящего изобретения стабильный жидкий фармацевтический состав может не содержать хелатирующее средство (например, EDTA). Если фармацевтический состав содержит хелатирующее средство, то скорость его окисления может повыситься.

В одном варианте осуществления настоящего изобретения стабильный жидкий фармацевтический состав может не содержать консервант. Примеры консерванта включают хлорид октадецилдиметилбензиламмония, хлорид гексаметония, хлорид бензалкония, хлорид бензетония, фенол, бутиловый спирт, бензиновый спирт, алкилпарабен, катехол, резорцинол, циклогексанол, 3- пентанол, м-крезол и т.п. Если фармацевтический состав содержит консервант, то консервант может не помогать в улучшении стабильности фармацевтического состава.

В одном варианте осуществления настоящего изобретения стабильный жидкий фармацевтический состав по настоящему изобретению может дополнительно содержать добавку, известную из уровня техники, которая практически не оказывает отрицательного воздействия на активность антитела, а также на стабильность и низкую вязкость состава. Например, фармацевтический состав может дополнительно содержать водный носитель, антиоксидант или смесь двух или более из них. Водным носителем является носитель, который является фармацевтически приемлемым (безопасным и нетоксичным при введении людям) и пригодным для получения жидких фармацевтических составов. Примеры водного носителя включают без ограничения стерильную воду для инъекций (SWFI), бактериостатическую воду для инъекций (BWFI), стерильную солевой раствор, раствор Рингера, декстрозу и т.п. Примеры антиоксиданта включают без ограничения аскорбиновую кислоту и т.п.

(G) "Стабильный" жидкий фармацевтический состав.

Термин "стабильный" в "стабильном" жидком фармацевтическом составе по настоящему изобретению означает, что антитело в соответствии с настоящим изобретением по сути сохраняет свою физическую стабильность, и/или химическую стабильность, и/или биологическую активность в ходе получения и/или при хранении. Различные аналитические методики для измерения стабильности белка общедоступны из уровня техники.

Физическая стабильность может быть оценена посредством способов, известных из уровня техники, которые предусматривают измерение видимого затухания света в образце (поглощения или оптической плотности). Такое измерение затухания света связано с мутностью состава. Кроме того, для физической стабильности могут быть измерены значения содержания высокомолекулярных компонентов, значения содержания низкомолекулярных компонентов, количества интактных белков, количество невидимых невооруженным глазом частиц и т.п.

Химическая стабильность может быть оценена, например, с помощью выявления и количественного оценивания химически измененных форм антитела. Химическая стабильность включает изменение заряда (например, возникающее в результате дезамидирования или окисления), которое можно оценить, например, с помощью ионообменной хроматографии. Для химической стабильности можно измерить варианты заряда (кислотные или основные пики).

Биологическую активность можно оценить посредством способов, известных из уровня техники. Например, аффинность связывания с антигеном можно измерить с помощью ELISA.

В одном варианте осуществления настоящего изобретения жидкий фармацевтический состав может быть стабильным на протяжении длительного периода времени.

В одном варианте осуществления настоящего изобретения термин "стабильный" жидкий фармацевтический состав означает жидкий фармацевтический состав, отвечающий одному или нескольким из следующих критериев.

Мутность.

Жидкий фармацевтический состав, характеризующийся поглощением  $A_{600}$  0-0,0300 или 0-0,0700 при измерении с помощью спектрофотометра после 4 недель хранения при температуре  $40\pm 2^\circ\text{C}$ .

Жидкий фармацевтический состав, характеризующийся поглощением  $A_{600}$  0-0,0300 или 0-0,0700 при измерении с помощью спектрофотометра после 4 недель хранения при температуре  $40\pm 2^\circ\text{C}$  и относительной влажности  $75\pm 5\%$  в закрытых условиях.

Содержание основного компонента (основной пик)

Жидкий фармацевтический состав, в котором содержание основного компонента после 4 недель хранения при температуре  $40\pm 2^\circ\text{C}$  составляет 98-100% при измерении с помощью SE-HPLC.

Жидкий фармацевтический состав, в котором содержание основного компонента после 4 недель



Жидкий фармацевтический состав, в котором количество невидимых невооруженным глазом частиц ( $\geq 10,00$  мкм,  $< 100,00$  мкм) после 4 недель хранения при температуре  $40 \pm 2^\circ\text{C}$  и относительной влажности  $75 \pm 5\%$  в закрытых условиях составляет 0-200 при измерении с помощью MFI.

Жидкий фармацевтический состав, в котором количество невидимых невооруженным глазом частиц ( $\geq 10,00$  мкм,  $< 100,00$  мкм) после 6 недель хранения при температуре  $40 \pm 2^\circ\text{C}$  составляет 0-500 при измерении с помощью MFI.

Жидкий фармацевтический состав, в котором количество невидимых невооруженным глазом частиц ( $\geq 10,00$  мкм,  $< 100,00$  мкм) после 6 недель хранения при температуре  $40 \pm 2^\circ\text{C}$  и относительной влажности  $75 \pm 5\%$  в закрытых условиях составляет 0-500 при измерении с помощью MFI.

Скорость окисления.

Жидкий фармацевтический состав, в котором скорость окисления Met 255 тяжелой цепи после 4 недель хранения при температуре  $40 \pm 2^\circ\text{C}$  составляет 0-2,5% при измерении с помощью LC-MS.

Жидкий фармацевтический состав, в котором скорость окисления Met 255 тяжелой цепи после 4 недель хранения при температуре  $40 \pm 2^\circ\text{C}$  и относительной влажности  $75 \pm 5\%$  в закрытых условиях составляет 0-2,5% при измерении с помощью LC-MS.

Варианты заряда.

Жидкий фармацевтический состав, демонстрирующий кислотный пик 20-35% при измерении с помощью ИЭС-НPLC после 4 недель хранения при температуре  $40 \pm 2^\circ\text{C}$ .

Жидкий фармацевтический состав, демонстрирующий кислотный пик 20-35% при измерении с помощью ИЭС-НPLC после 4 недель хранения при температуре  $40 \pm 2^\circ\text{C}$  и относительной влажности  $75 \pm 5\%$  в закрытых условиях.

Жидкий фармацевтический состав, демонстрирующий основной пик 33-40% при измерении с помощью ИЭС-НPLC после 4 недель хранения при температуре  $40 \pm 2^\circ\text{C}$ .

Жидкий фармацевтический состав, демонстрирующий основной пик 33-40% при измерении с помощью ИЭС-НPLC после 4 недель хранения при температуре  $40 \pm 2^\circ\text{C}$  и относительной влажности  $75 \pm 5\%$  в закрытых условиях.

Аффинность связывания с TNF- $\alpha$ .

Жидкий фармацевтический состав, характеризующийся аффинностью связывания с TNF- $\alpha$  80-120% при измерении с помощью ELISA после 12 месяцев хранения при температуре  $5 \pm 3^\circ\text{C}$ ; и жидкий фармацевтический состав, характеризующийся аффинностью связывания с TNF- $\alpha$  80-120% при измерении с помощью ELISA после 12 месяцев хранения при температуре  $5 \pm 3^\circ\text{C}$  в закрытых условиях.

В одном варианте осуществления настоящего изобретения фармацевтический состав может характеризоваться вязкостью от 0,5 до 10,0 сП при измерении после 1 месяца хранения при температуре  $40 \pm 2^\circ\text{C}$ . В другом варианте осуществления настоящего изобретения фармацевтический состав может характеризоваться вязкостью от 0,5 до 5,0 сП при измерении после 6 месяцев хранения при температуре  $5 \pm 3^\circ\text{C}$ .

Способ получения стабильного жидкого фармацевтического состава.

Стабильный жидкий фармацевтический состав по настоящему изобретению можно получить с применением любого известного способа, который не ограничивается конкретным способом. Например, стабильный жидкий фармацевтический состав можно получить путем добавления буфера в раствор, содержащий поверхностно-активное вещество и сахар или его производное при регулировании pH раствора, а затем добавления антитела в смешанный раствор. В качестве альтернативы, жидкий фармацевтический состав можно получить путем получения раствора, содержащего некоторые вспомогательные вещества, на конечной стадии процесса очистки, а затем добавления оставшегося компонента в раствор. Например, жидкий фармацевтический состав можно получить путем получения раствора, содержащего антитело, буфер и сахар или его производное, а затем добавления поверхностно-активного вещества в раствор.

Кроме того, способ получения состава может включать или не включать стадию лиофилизации.

Если способ получения не предусматривает стадию лиофилизации, например, жидкий фармацевтический состав, полученный в соответствии с настоящим изобретением, можно обработать путем стерилизации, а затем немедленно поместить в закрытый контейнер.

Если способ получения предусматривает стадию лиофилизации, например, жидкий фармацевтический состав, полученный в соответствии с настоящим изобретением, можно лиофилизировать или лиофилизировать и сохранить, а затем компоненты, удаленные или модифицированные лиофилизацией и/или хранением, можно дополнить или заменить, за счет чего обеспечивается получение жидкого фармацевтического состава в соответствии с настоящим изобретением. В качестве альтернативы, только компоненты жидкого фармацевтического состава по настоящему изобретению, за исключением компонентов, которые можно удалить или модифицировать лиофилизацией и/или хранением, можно лиофилизировать или лиофилизировать и сохранить, а затем к ним можно добавить исключенные компоненты, за счет чего обеспечивается получение жидкого фармацевтического состава в соответствии с настоящим изобретением.

Способ применения стабильного жидкого фармацевтического состава.

Стабильный жидкий фармацевтический состав в соответствии с настоящим изобретением можно применять для лечения заболеваний, при которых активность TNF- $\alpha$  является вредным фактором. Примеры заболеваний, при которых активность TNF- $\alpha$  является вредным фактором, включают без ограничения септицемию, аутоиммунные заболевания, инфекционные заболевания, отторжение трансплантата, злокачественное раковое заболевание, легочные нарушения, нарушения кишечника, сердечные нарушения и т.п.

В одном варианте осуществления настоящего изобретения заболевания, при которых активность TNF- $\alpha$  является вредным фактором, могут быть выбраны из ревматоидного артрита, анкилозирующего спондилита, язвенного колита, болезни Крона взрослых, педиатрической болезни Крона, псориаза и псориатического артрита.

Стабильный жидкий фармацевтический состав в соответствии с настоящим изобретением может быть представлен в виде единичной дозированной формы, многократной дозированной формы или формы для подкожной самостоятельной инъекции.

Концентрации других компонентов, в том числе антитела, в жидком фармацевтическом составе, описываются выше, а общий объем жидкого фармацевтического состава может составлять 0,2-2,0 мл.

Доза и время введения жидкого фармацевтического состава могут варьировать в зависимости от вида заболевания, тяжести и течения заболевания, состояния здоровья пациента и ответа на лечение, а также от мнения лечащего врача и не ограничиваются конкретными дозой и временем введения. Например, один или несколько продуктов, содержащих жидкий фармацевтический состав, можно вводить дозой 1-10 мг/кг на основании концентрации антитела, а затем одинаковые или различные дозы можно вводить с интервалами в одну неделю, две недели, три недели, один месяц, два месяца или три месяца.

В одном варианте осуществления настоящего изобретения в отношении стабильного жидкого фармацевтического состава можно не осуществлять стадию восстановления, стадию разбавления или как стадию восстановления, так и стадию разбавления перед применением.

Способ лечения и способ стабилизации.

Настоящее изобретение также предусматривает способ лечения пациента, имеющего заболевание, при котором активность TNF- $\alpha$  является вредным фактором, при этом способ предусматривает введение пациенту стабильного жидкого фармацевтического состава, содержащего (A) антитело или его антигенсвязывающий фрагмент; (B) поверхностно-активное вещество; (C) сахар или его производное и (D) буфер.

Настоящее изобретение также предусматривает способ стабилизации антитела в жидком фармацевтическом составе, при этом способ предусматривает получение стабильного жидкого фармацевтического состава, содержащего (A) антитело или его антигенсвязывающий фрагмент; (B) поверхностно-активное вещество; (C) сахар или его производное и (D) буфер.

В одном варианте осуществления способа лечения или способа стабилизации антитело (A) может включать антитело, которое связывается с TNF- $\alpha$ .

В одном варианте осуществления способа лечения или способа стабилизации антитело (A) может включать инфликсимаб, адалимумаб, цертолизумаб пегол, голимумаб или их смесь.

В одном варианте осуществления способа лечения или способа стабилизации антитело (A) может включать химерное моноклональное IgG-антитело на основе человеческих и мышиных областей.

В одном варианте осуществления способа лечения или способа стабилизации антитело (A) или его антигенсвязывающий фрагмент может содержать переменную область легкой цепи, содержащую домен CDR1, который содержит аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 1, домен CDR2, который содержит аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 2, и домен CDR3, который содержит аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 3; и переменную область тяжелой цепи, содержащую домен CDR1, который содержит аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 4, домен CDR2, который содержит аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 5, и домен CDR3, который содержит аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 6.

В одном варианте осуществления способа лечения или способа стабилизации антитело или его антигенсвязывающий фрагмент (A) могут содержать переменную область легкой цепи, имеющую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 7; и переменную область тяжелой цепи, имеющую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 8.

В одном варианте осуществления способа лечения или способа стабилизации антитело (A) может содержать легкую цепь, имеющую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 9; и тяжелую цепь, имеющую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 10.

В одном варианте осуществления способа лечения или способа стабилизации антитело или его антигенсвязывающий фрагмент (A) могут содержаться в концентрации 10-200 мг/мл.

В одном варианте осуществления способа лечения или способа стабилизации поверхностно-активное вещество (B) может включать полисорбат, поллоксамер или их смесь.

В одном варианте осуществления способа лечения или способа стабилизации поверхностно-

активное вещество (В) может включать полисорбат 20, полисорбат 40, полисорбат 60, полисорбат 80 или смесь двух или более из них.

В одном варианте осуществления способа лечения или способа стабилизации поверхностно-активное вещество (В) может включать полисорбат 80.

В одном варианте осуществления способа лечения или способа стабилизации поверхностно-активное вещество (В) может содержаться в концентрации 0,02-0,1% (вес./об.).

В одном варианте осуществления способа лечения или способа стабилизации сахар (С) может включать моносахарид, дисахарид, олигосахарид, полисахарид или смесь двух или более из них, а производное сахара (С) может включать сахароспирт, сахарную кислоту или их смесь.

В одном варианте осуществления способа лечения или способа стабилизации сахар или его производное (С) могут включать сорбит, маннит, трегалозу, сахарозу или смесь двух или более из них.

В одном варианте осуществления способа лечения или способа стабилизации сахар или его производное (С) могут содержаться в концентрации 1-10% (вес./об.).

В одном варианте осуществления способа лечения или способа стабилизации буфер (D) может содержать ацетат или гистидин.

В одном варианте осуществления способа лечения или способа стабилизации буфер (D) может иметь концентрацию 1-50 мМ.

В одном варианте осуществления способа лечения или способа стабилизации стабильный жидкий фармацевтический состав может иметь pH 4,0-5,5.

В одном варианте осуществления способа лечения или способа стабилизации стабильный жидкий фармацевтический состав может не содержать аспарагиновую кислоту, лизин, аргинин или их смеси.

В одном варианте осуществления способа лечения или способа стабилизации стабильный жидкий фармацевтический состав может не содержать NaCl, KCl, NaF, KBr, NaBr, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, NaSCN, K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> или их смеси.

В одном варианте осуществления способа лечения или способа стабилизации стабильный жидкий фармацевтический состав может не содержать хелатирующее средство.

В одном варианте осуществления способа лечения или способа стабилизации стабильный жидкий фармацевтический состав может не содержать консервант.

В одном варианте осуществления способа лечения или способа стабилизации стабильный жидкий фармацевтический состав может дополнительно содержать водный носитель, антиоксидант или смесь двух или более из них.

В одном варианте осуществления способа лечения или способа стабилизации стабильный жидкий фармацевтический состав может характеризоваться вязкостью от 0,5 до 10 сП при измерении после 1 месяца хранения при температуре 40±2°C или вязкостью от 0,5 до 5 сП при измерении после 6 месяцев хранения при температуре 5±3°C.

В одном варианте осуществления способа лечения или способа стабилизации стабильный жидкий фармацевтический состав может содержать (А) антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которые содержат вариабельную область легкой цепи, содержащую домен CDR1, который содержит аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 1, домен CDR2, который содержит аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 2, и домен CDR3, который содержит аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 3; и вариабельную область тяжелой цепи, содержащую домен CDR1, который содержит аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 4, домен CDR2, который содержит аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 5, и домен CDR3, который содержит аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 6; (В) поверхностно-активное вещество; (С) сахар или его производное и (D) буфер, содержащий ацетат или гистидин.

В одном варианте осуществления способа лечения или способа стабилизации стабильный жидкий фармацевтический состав может содержать (А) 90-145 мг/мл антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, которые содержат вариабельную область легкой цепи, содержащую домен CDR1, который содержит аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 1, домен CDR2, который содержит аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 2, и домен CDR3, который содержит аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 3; и вариабельную область тяжелой цепи, содержащую домен CDR1, который содержит аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 4, домен CDR2, который содержит аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 5, и домен CDR3, который содержит аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 6; (В) 0,02-0,1% (вес./об.) поверхностно-активного вещества; (С) 1-10% (вес./об.) сахара или его производного; и (D) 1-50 мМ буфера, содержащего ацетат или гистидин.

В одном варианте осуществления способа лечения стабильный жидкий фармацевтический состав можно вводить подкожно.

В одном варианте осуществления способа лечения или способа стабилизации в отношении стабильного жидкого фармацевтического состава можно не осуществлять стадию восстановления, стадию разбавления или как стадию восстановления, так и стадию разбавления перед применением.

В одном варианте осуществления способа лечения или способа стабилизации стабильным жидким

фармацевтическим составом можно заполнять предварительно заполненный шприц перед применением.

В одном варианте осуществления способа лечения или способа стабилизации предварительно заполненный шприц можно включать в автоматическое устройство для инъекций перед применением.

Продукт.

Настоящее изобретение также предусматривает продукт, содержащий стабильный жидкий фармацевтический состав и контейнер, содержащий стабильный жидкий фармацевтический состав в закрытом состоянии.

Стабильный жидкий фармацевтический состав описан выше.

В одном варианте осуществления настоящего изобретения контейнер может быть образован из материала, такого как без ограничения стекло, полимер (пластик), металл или подобное. В одном варианте осуществления настоящего изобретения контейнер представляет собой без ограничения бутылку, флакон, картридж, шприц (предварительно заполненный шприц, автоматический шприц) или пробирку. В одном варианте осуществления настоящего изобретения контейнер может представлять собой стеклянный или полимерный флакон или стеклянный или полимерный предварительно заполненный шприц.

Определенные формы продукта описанного выше флакона, картриджа, предварительно заполненного шприца или автоматического шприца, а также способы заполнения стабильным жидким фармацевтическим составом флакона, картриджа, предварительно заполненного шприца или автоматического шприца могут быть общедоступными или выполняемыми любым специалистом в области техники, к которой относится настоящее изобретение. Например, в патентах США №№ 4861335 и 6331174 и т.д. раскрывается определенная форма продукта предварительно заполненного шприца и способ заполнения. Например, в патентах США №№ 5085642 и 5681291 и т.д. раскрывается определенная форма продукта автоматического шприца и способ сборки. Описанный выше флакон, картридж, предварительно заполненный шприц или автоматический шприц, который используют в настоящем изобретении, может быть коммерчески доступным продуктом или продуктом, отдельно изготавливаемым с учетом физических свойств стабильного жидкого фармацевтического состава, участка, в который состав вводится, дозы состава и т.п.

В одном варианте осуществления настоящего изобретения внутри контейнер может не быть покрыт силиконовым маслом. Если он покрыт силиконовым маслом, то стабильность состава может быть снижена. Контейнер может быть контейнером с одной дозой или с несколькими дозами.

В одном варианте осуществления настоящего изобретения продукт может дополнительно содержать инструкции, обеспечивающие способ применения стабильного жидкого фармацевтического состава, способ хранения состава или как способ применения, так и способ хранения. Способ применения состав предусматривает способ лечения заболевания, при котором активность TNF- $\alpha$  является вредным фактором, и может предусматривать путь введения, дозу состава и время введения.

В одном варианте осуществления настоящего изобретения продукт может содержать другие необходимые инструменты (например, иглу, шприц и т.д.) с коммерческой точки зрения и точки зрения пользователя.

Далее в данном документе настоящее изобретение будет подробно описано со ссылкой на примеры. Однако следует понимать, что эти примеры приведены исключительно с целью иллюстрации и не предназначены для ограничения объема настоящего изобретения.

### Примеры

Антитело, используемое в следующих экспериментальных примерах, представляло собой инфликсимаб, очищенный из коммерчески доступного Remsima (изготавливаемого компанией Celltrion).

Физическую стабильность, химическую стабильность и биологическую активность жидких фармацевтических составов, применяемых в следующих экспериментальных примерах, измеряли с использованием следующих способов.

Мутность.

Поглощение при 600 нм измеряли с использованием спектрофотометра UV-Vis.

Содержание основного компонента.

Содержание основного компонента (% основного пика) измеряли с использованием эксклюзионной высокоэффективной жидкостной хроматографии (HPLC).

Содержание высокомолекулярных компонентов.

Содержание высокомолекулярных компонентов (% пика, находящегося перед основным пиком) измеряли с использованием эксклюзионной высокоэффективной жидкостной хроматографии (HPLC).

Содержание низкомолекулярных компонентов.

Содержание низкомолекулярных компонентов (% пика, находящегося после основного пика) измеряли с использованием эксклюзионной высокоэффективной жидкостной хроматографии (HPLC).

Содержание интактного иммуноглобулина G (% интактного IgG).

Содержание интактного иммуноглобулина G (%) измеряли с использованием капиллярного электрофореза в присутствии додецилсульфата натрия в невосстанавливающих условиях (NR CE-SDS).

Содержание интактной тяжелой цепи и легкой цепи (% интактной HC+LC).

Содержание интактной тяжелой цепи и легкой цепи (%) измеряли с использованием капиллярного

электрофореза в присутствии додецилсульфата натрия в восстанавливающих условиях (NR CE-SDS).

Количество невидимых невооруженным глазом частиц.

Экспериментальные примеры 1-4: количество невидимых невооруженным глазом частиц измеряли с использованием визуализации микропотока (MFI).

Экспериментальный пример 5: количество невидимых невооруженным глазом частиц измеряли с использованием счетчика частиц в жидкости с рассеиванием света (модель HIAС 9703).

Окисление.

Окисление (%) Met 255 тяжелой цепи измеряли с помощью пептидного картирования с использованием жидкостной хроматографии-масс-спектрометрии (LC-MS).

Варианты заряда.

Кислотные и основные пики (%) измеряли с помощью ионообменной хроматографии-высокоэффективной жидкостной хроматографии (IEC-HPLC).

Аффинность связывания с TNF- $\alpha$ .

Аффинность связывания с TNF- $\alpha$  (%) измеряли с помощью твердофазного иммуносорбентного анализа (ELISA).

Вязкость.

С использованием микрокапиллярной проточной системы (кажущаяся скорость сдвига:  $10^3$ - $10^5$  с<sup>-1</sup>), оснащенной проточной кюветой (тип датчика B05; глубина кюветы 50 мкм), измеряли вязкость в шприце объемом 500 мкл при  $25 \pm 0,1$ °C.

Экспериментальный пример 1. Сравнение сахароспирта с NaCl; сравнение буфера ацетат/гистидин с буфером цитрат/фосфат; сравнение pH 4-5,5 с pH 6-7.

Для получения жидких фармацевтических составов, подлежащих применению в экспериментальном примере 1, каждый буфер получали с обеспечением желаемого pH и добавляли в него сорбит или NaCl. Затем к ним добавляли антитело и добавляли поверхностно-активное вещество, за счет чего обеспечивается получение образцов, показанных в табл. 1 ниже. Определенное содержание каждого компонента показано в табл. 1 ниже. Концентрация буфера означает концентрацию молекул/анионов соответствующего соединения. Общий объем составлял 1 мл.

Таблица 1

	Содержание антитела (мг/мл)	Поверхностно-активное вещество	Сахароспирт или NaCl	Буфер	pH
Пример 1	100	Полисорбат 80 0,05% (вес/об.)	Сорбит 5% (вес/об.)	Ацетат натрия 10 мМ	4,0
Пример 2	100	Полисорбат 80 0,05% (вес/об.)	Сорбит 5% (вес/об.)	Гистидин 10 мМ	5,5
Пример 3	100	Полисорбат 20 0,05% (вес/об.)	Сорбит 5% (вес/об.)	Гистидин 10 мМ	5,5
Сравнительный пример 1	100	Полисорбат 80 0,05% (вес/об.)	NaCl 140 мМ	Ацетат натрия 10 мМ	4,0
Сравнительный пример 2	100	Полисорбат 80 0,05% (вес/об.)	NaCl 140 мМ	Цитрат натрия 10 мМ	5,0
Сравнительный пример 3	100	Полисорбат 80 0,05% (вес/об.)	Сорбит 5% (вес/об.)	Цитрат натрия 10 мМ	5,0
Сравнительный пример 4	100	Полисорбат 80 0,05% (вес/об.)	NaCl 140 мМ	Гистидин 10 мМ	5,5
Сравнительный пример 5	100	Полисорбат 80 0,05% (вес/об.)	NaCl 140 мМ	Фосфат натрия 10 мМ	6,0
Сравнительный пример 6	100	Полисорбат 80 0,05% (вес/об.)	Сорбит 5% (вес/об.)	Фосфат натрия 10 мМ	6,0
Сравнительный пример 7	100	Полисорбат 80 0,05% (вес/об.)	NaCl 140 мМ	Фосфат натрия 10 мМ	7,0
Сравнительный пример 8	100	Полисорбат 80 0,05% (вес/об.)	Сорбит 5% (вес/об.)	Фосфат натрия 10 мМ	7,0

Жидкие фармацевтические составы, полученные согласно примерам 1-3 и сравнительным примерам 1-8, хранили в течение 2 недель при температуре  $40 \pm 2$ °C и относительной влажности  $75 \pm 5$ %. В результате все составы, содержащие NaCl (сравнительные примеры 1, 2, 4, 5 и 7), демонстрировали осаждение и форму, подобную желатину. Кроме того, сравнительный пример 3, содержащий сорбит и содержащий цитрат натрия, и сравнительный пример 8, содержащий сорбит и содержащий фосфат натрия,

также демонстрировали форму, подобную желатину.

Среди составов, содержащих сорбит, только составы из примеров 1, 2 и 3 и сравнительного примера 6 не демонстрировали форму желатина. В составах измеряли их стабильность после 0, 2 и 4 недель хранения при температуре  $5\pm 3^\circ\text{C}$  и их стабильность после 2 и 4 недель хранения при температуре  $40\pm 2^\circ\text{C}$  и относительной влажности  $75\pm 5\%$ . Результаты измерения показаны в табл. 2-9 ниже.

Мутность.

Таблица 2

	Через 0 недель при $5\pm 3^\circ\text{C}$	Через 2 недели при $5\pm 3^\circ\text{C}$	Через 4 недели при $5\pm 3^\circ\text{C}$	Через 2 недели при $40\pm 2^\circ\text{C}$	Через 4 недели при $40\pm 2^\circ\text{C}$
<b>Пример 1</b>	0,0082	0,0060	0,0087	0,0364	0,0263
<b>Пример 2</b>	0,0099	0,1550	0,0082	0,0291	0,0562
<b>Пример 3</b>	0,0112	0,0059	0,0082	0,0358	0,0643
<b>Сравнительный пример 6</b>	0,0120	0,0228	0,0138	0,1127	0,3113

Как можно видеть из табл. 2 выше, состав из примера 1, имеющий рН 4 и содержащий ацетат в качестве буфера, был наилучшим в отношении мутности, и, в частности, демонстрировал поглощение 0,0300 или ниже после 4 недель хранения при  $40^\circ\text{C}$ . Кроме того, можно видеть, что составы из примера 2 и 3, имеющие рН 5,5 и содержащие гистидин в качестве буфера, также демонстрировали поглощение 0,0700 или ниже после 4 недель хранения при  $40^\circ\text{C}$ .

Однако можно видеть, что состав из сравнительного примера 6, имеющий рН 6 и содержащий фосфат в качестве буфера, демонстрировал значительно повышенную мутность после 2 и 4 недель хранения при  $40^\circ\text{C}$ .

Содержание высокомолекулярных компонентов.

Таблица 3

	Через 0 недель при $5\pm 3^\circ\text{C}$	Через 2 недели при $5\pm 3^\circ\text{C}$	Через 4 недели при $5\pm 3^\circ\text{C}$	Через 2 недели при $40\pm 2^\circ\text{C}$	Через 4 недели при $40\pm 2^\circ\text{C}$
<b>Пример 1</b>	0,4	0,8	0,6	0,8	0,7
<b>Пример 2</b>	0,6	1,1	0,9	1,6	1,4
<b>Пример 3</b>	0,6	1,1	0,8	1,4	1,3
<b>Сравнительный пример 6</b>	0,8	1,5	1,2	2,4	2,3

Как можно видеть из табл. 3 выше, состав из примера 1 демонстрировал самое низкое содержание высокомолекулярных компонентов при всех условиях. В частности, состав из примера 1 демонстрировал содержание высокомолекулярных компонентов, составляющее 1,0% или меньше, после 4 недель хранения при температуре  $40^\circ\text{C}$ . Кроме того, можно видеть, что составы из примеров 2 и 3 демонстрировали содержание высокомолекулярных компонентов, составляющее 1,5% или меньше, после 4 недель хранения при температуре  $40^\circ\text{C}$ .

Содержание интактного иммуноглобулина G (% интактного IgG).

Таблица 4

	Через 0 недель при $5\pm 3^\circ\text{C}$	Через 2 недели при $5\pm 3^\circ\text{C}$	Через 4 недели при $5\pm 3^\circ\text{C}$	Через 2 недели при $40\pm 2^\circ\text{C}$	Через 4 недели при $40\pm 2^\circ\text{C}$
<b>Пример 1</b>	97,7	98,8	98,0	96,9	94,5
<b>Пример 2</b>	97,4	98,7	98,2	97,4	94,6
<b>Пример 3</b>	97,2	98,9	97,8	97,4	94,4
<b>Сравнительный пример 6</b>	97,2	98,6	98,3	97,1	93,6

Как можно видеть из табл. 4 выше, значения содержания интактного иммуноглобулина в составах из примеров 1-3 после 4 недель хранения при температуре  $40^\circ\text{C}$  составляли 94,0% или больше, что было выше, чем в сравнительном примере 6.

Содержание интактной тяжелой цепи и легкой цепи (% интактной HC+LC).

Таблица 5

	Через 0 недель при 5±3°C	Через 2 недели при 5±3°C	Через 4 недели при 5±3°C	Через 2 недели при 40±2°C	Через 4 недели при 40±2°C
Пример 1	99,5	99,6	99,5	99,2	98,3
Пример 2	99,5	99,6	99,4	99,3	98,0
Пример 3	99,6	99,6	99,4	99,3	98,3
Сравнительный пример 6	99,6	99,6	99,4	99,3	97,6

Как можно видеть из табл. 5 выше, значения содержания интактной тяжелой цепи и легкой цепи в составах из примеров 1-3 после 4 недель хранения при температуре 40°C составляли 98,0% или больше, что было выше, чем в сравнительном примере 6.

Скорость окисления (Met 255 тяжелой цепи).

Таблица 6

	Через 0 недель при 40±2°C	Через 4 недели при 40±2°C
Пример 1	2,2	2,4
Пример 2	2,0	2,5
Пример 3	2,1	2,5
Сравнительный пример 6	2,2	4,1

Как можно видеть из табл. 6 выше, скорости окисления Met 255 тяжелой цепи в составах из примеров 1-3 после 4 недель хранения при температуре 40°C составляли 2,5% или меньше, что было ниже, чем в сравнительном примере 6.

Варианты зарядов (кислотные пики).

Таблица 7

	Через 0 недель при 5±3°C	Через 2 недели при 5±3°C	Через 4 недели при 5±3°C	Через 2 недели при 40±2°C	Через 4 недели при 40±2°C
Пример 1	20,5	20,5	20,5	27,0	33,5
Пример 2	20,6	20,8	20,6	27,9	34,5
Пример 3	20,3	20,9	20,8	27,5	34,4
Сравнительный пример 6	20,4	20,9	20,9	30,3	38,6

Как можно видеть из табл. 7, кислотные пики составов из примеров 1-3 после 4 недель хранения при температуре 40°C составляли 35% или меньше, что было ниже, чем в сравнительном примере 6. Это указывает на то, что составы из примеров 1-3 являются стабильными составами, в которых дезамидирование, которое является основной причиной увеличения кислотных пиков, происходит реже.

Варианты зарядов (основные пики).

Таблица 8

	Через 0 недель при 5±3°C	Через 2 недели при 5±3°C	Через 4 недели при 5±3°C	Через 2 недели при 40±2°C	Через 4 недели при 40±2°C
Пример 1	40,6	40,1	40,2	37,4	34,4
Пример 2	40,5	39,8	39,8	36,3	33,1
Пример 3	40,4	39,6	39,8	36,5	33,3
Сравнительный пример 6	40,4	39,8	40,0	35,1	30,9

Как можно видеть из табл. 8 выше, основные пики составов из примеров 1-3 после 4 недель хранения при температуре 40°C составляли 33% или больше, что было выше, чем в сравнительном примере 6.

Количество невидимых невооруженным глазом частиц ( $\geq 1,00$  мкм,  $< 100,00$  мкм).

Таблица 9

	Через 0 недель при 5±3°C	Через 4 недели при 5±3°C	Через 4 недели при 40±2°C
Пример 1	1527	7645	7005
Пример 2	4405	14257	29500
Пример 3	4525	1493	26923
Сравнительный пример 6	13282	6688	2319386

Как можно видеть из табл. 9, количество невидимых невооруженным глазом частиц ( $\geq 1,00$  мкм,

<100,00 мкм) в составах из примеров 1-3 после 4 недель хранения при температуре 40°C составляло 30,000 или меньше, что было меньше, чем в сравнительном примере 6.

Экспериментальный пример 2. Эффект аминокислоты.

Для получения жидких фармацевтических составов, подлежащих применению в экспериментальном примере 2, буфер, содержащий ацетат натрия, получали с обеспечением желаемого рН и добавляли в него сорбит. Затем к ним добавляли антитело и добавляли поверхностно-активное вещество и аминокислоту/таурин, за счет чего обеспечивается получение образцов, показанных в табл. 10 ниже. Концентрация каждого компонента показана в табл. 10 ниже. Концентрация буфера означает концентрацию ацетатного аниона. Общий объем составлял 1 мл.

Таблица 10

	Содержание антитела (мг/мл)	Поверхностно-активное вещество	Сахароспирт или NaCl	Буфер	рН	Аминокислота/таурин <sup>1)</sup>
<b>Пример 1</b>	100	Полисорбат 80 0,05% (вес/об.)	Сорбит 5% (вес/об.)	Ацетат натрия 10 мМ	4,0	-
<b>Эталонный пример 1</b>	100	Полисорбат 80 0,05% (вес/об.)	Сорбит 4% (вес/об.)	Ацетат натрия 10 мМ	4,0	L-Аланин
<b>Эталонный пример 2</b>	100	Полисорбат 80 0,05% (вес/об.)	Сорбит 4% (вес/об.)	Ацетат натрия 10 мМ	4,0	L-Аспарагин
<b>Эталонный пример 3</b>	100	Полисорбат 80 0,05% (вес/об.)	Сорбит 4% (вес/об.)	Ацетат натрия 10 мМ	4,0	L-Глутамин
<b>Эталонный пример 4</b>	100	Полисорбат 80 0,05% (вес/об.)	Сорбит 4% (вес/об.)	Ацетат натрия 10 мМ	4,0	L-Глутаминовая кислота
<b>Эталонный пример 5</b>	100	Полисорбат 80 0,05% (вес/об.)	Сорбит 4% (вес/об.)	Ацетат натрия 10 мМ	4,0	L-Глицин
<b>Эталонный пример 6</b>	100	Полисорбат 80 0,05% (вес/об.)	Сорбит 4% (вес/об.)	Ацетат натрия 10 мМ	4,0	L-Изолейцин
<b>Эталонный пример 7</b>	100	Полисорбат 80 0,05% (вес/об.)	Сорбит 4% (вес/об.)	Ацетат натрия 10 мМ	4,0	L-Лейцин
<b>Эталонный пример 8</b>	100	Полисорбат 80 0,05% (вес/об.)	Сорбит 4% (вес/об.)	Ацетат натрия 10 мМ	4,0	L-Метионин
<b>Эталонный пример 9</b>	100	Полисорбат 80 0,05% (вес/об.)	Сорбит 4% (вес/об.)	Ацетат натрия 10 мМ	4,0	L-Фенилаланин
<b>Эталонный пример 10</b>	100	Полисорбат 80 0,05% (вес/об.)	Сорбит 4% (вес/об.)	Ацетат натрия 10 мМ	4,0	L-Пролин
<b>Эталонный</b>	100	Полисорбат 80	Сорбит	Ацетат	4,0	L-Серин

пример 11		0,05% (вес/об.)	4% (вес/об.)	натрия 10 мМ		
Эталонный пример 12	100	Полисорбат 80 0,05% (вес/об.)	Сорбит 4% (вес/об.)	Ацетат натрия 10 мМ	4,0	L-Треонин
Эталонный пример 13	100	Полисорбат 80 0,05% (вес/об.)	Сорбит 4% (вес/об.)	Ацетат натрия 10 мМ	4,0	L-Триптофан
Эталонный пример 14	100	Полисорбат 80 0,05% (вес/об.)	Сорбит 4% (вес/об.)	Ацетат натрия 10 мМ	4,0	L-Тирозин
Эталонный пример 15	100	Полисорбат 80 0,05% (вес/об.)	Сорбит 4% (вес/об.)	Ацетат натрия 10 мМ	4,0	Валин
Эталонный пример 16	100	Полисорбат 80 0,05% (вес/об.)	Сорбит 4% (вес/об.)	Ацетат натрия 10 мМ	4,0	Таурин
Сравнительный пример 9	100	Полисорбат 80 0,05% (вес/об.)	Сорбит 4% (вес/об.)	Ацетат натрия 10 мМ	4,0	L-Аспарагин овая кислота
Сравнительный пример 10	100	Полисорбат 80 0,05% (вес/об.)	Сорбит 4% (вес/об.)	Ацетат натрия 10 мМ	4,0	L-Гистидин
Сравнительный пример 11	100	Полисорбат 80 0,05% (вес/об.)	Сорбит 4% (вес/об.)	Ацетат натрия 10 мМ	4,0	L-Лизин
Сравнительный пример 12	100	Полисорбат 80 0,05% (вес/об.)	Сорбит 4% (вес/об.)	Ацетат натрия 10 мМ	4,0	L-Аргинин

Аминокислоту или таурин добавляли в количестве 5% (вес./об.) или меньше.

Составы из сравнительных примеров 9, 10, 11 и 12, содержащие аспарагиновую кислоту, гистидин, лизин и аргинин, соответственно, становились твердыми после 24 ч хранения при 50±2°C.

Для составов, содержащих другие аминокислоты или таурин, измеряли стабильности после 24 ч хранения при 5±3°C и 50±2°C, но не было существенного различия между этими составами и между этими составами и составом из примера 1.

Экспериментальный пример 3. Концентрация белка; концентрация поверхностно-активного вещества и вид сахара.

Для получения жидких фармацевтических составов, подлежащих применению в экспериментальном примере 3, буфер, содержащий ацетат натрия, получали с обеспечением желаемого pH и добавляли в него сорбит, маннит, трегалозу или сахарозу. Затем к ним добавляли антитело и добавляли поверхностно-активное вещество, за счет чего обеспечивается получение образцов, показанных в табл. 11 ниже. Содержание каждого компонента показано в табл. 11 ниже. Концентрация буфера означает концентрацию ацетатного аниона. Общий объем составлял 1 мл.

Таблица 11

	Содержание антитела (мг/мл)	Поверхностно-активное вещество	Сахар	Буфер	pH
Пример 4	125	Полисорбат 80 0,05% (вес/об.)	Сорбит 5% (вес/об.)	Ацетат натрия 10 мМ	5,0
Пример 5	110	Полисорбат 80 0,05% (вес/об.)	Сорбит 5% (вес/об.)	Ацетат натрия 10 мМ	5,0
Пример 6	90	Полисорбат 80 0,05% (вес/об.)	Сорбит 5% (вес/об.)	Ацетат натрия 10 мМ	5,0
Пример 7	145	Полисорбат 80 0,05% (вес/об.)	Сорбит 5% (вес/об.)	Ацетат натрия 10 мМ	5,0
Пример 8	110	Полисорбат 80 0,02% (вес/об.)	Сорбит 5% (вес/об.)	Ацетат натрия 10 мМ	5,0
Пример 9	110	Полисорбат 80 0,1% (вес/об.)	Сорбит 5% (вес/об.)	Ацетат натрия 10 мМ	5,0
Пример 10	110	Полисорбат 80 0,05% (вес/об.)	Маннит 5% (вес/об.)	Ацетат натрия 10 мМ	5,0
Пример 11	110	Полисорбат 80 0,05% (вес/об.)	Трегалоза 10% (вес/об.)	Ацетат натрия 10 мМ	5,0
Пример 12	110	Полисорбат 80 0,05% (вес/об.)	Сахароза 10% (вес/об.)	Ацетат натрия 10 мМ	5,0

В составах измеряли их стабильность после 0, 2 и 4 недель хранения при температуре  $5\pm 3^\circ\text{C}$  и их стабильность после 2 и 4 недель хранения при температуре  $40\pm 2^\circ\text{C}$  и относительной влажности  $75\pm 5\%$ . Результаты измерения показаны в табл. 12-17 ниже.

Концентрация белка.

Содержание высокомолекулярных компонентов.

Таблица 12

	Содержание антитела (мг/мл)	Через 0 недель	Через 2 недели при $5^\circ\text{C}$	Через 4 недели при $5^\circ\text{C}$	Через 2 недели при $40^\circ\text{C}$	Через 4 недели при $40^\circ\text{C}$
Пример 6	90	1,0	1,1	1,1	0,8	0,8
Пример 5	110	1,1	1,1	1,2	1,0	1,0
Пример 4	125	1,1	1,2	1,2	1,2	1,2
Пример 7	145	1,2	1,2	1,3	1,3	1,3

Как можно видеть из табл. 12 выше, содержание высокомолекулярных компонентов повышалось по мере повышения концентрации антитела. Однако при концентрации антитела в диапазоне от 90 до 145 мг/мл значения содержания высокомолекулярных компонентов после 4 недель хранения при  $5^\circ\text{C}$  и  $40^\circ\text{C}$ , как правило, были низкими.

Концентрация поверхностно-активного вещества.

Количество невидимых невооруженным глазом частиц ( $\geq 1,00$  мкм,  $< 100,00$  мкм).

Таблица 13

	Поверхностно-активное вещество	Через 0 недель	Через 2 недели при $40^\circ\text{C}$	Через 4 недели при $40^\circ\text{C}$
Пример 8	Полисорбат 80 0,02% (вес/об.)	590	9235	5581
Пример 5	Полисорбат 80 0,05% (вес/об.)	6076	3957	6458
Пример 9	Полисорбат 80 0,1% (вес/об.)	997	2678	1672

Как можно видеть из табл. 13 выше, при концентрации поверхностно-активного вещества в диапазоне от 0,02 до 0,1% (вес/об.) количество невидимых невооруженным глазом частиц ( $\geq 1,00$  мкм,  $< 100,00$  мкм) после 4 недель хранения при  $40^\circ\text{C}$  составляло 10000 или меньше.

Вид сахара.  
Содержание основного компонента (основной пик).

Таблица 14

	Сахар	Через 0 недель	Через 2 недели при 40°C	Через 4 недели при 40°C
Пример 5	Сорбит 5% (вес/об.)	98,9	98,5	98,1
Пример 10	Маннит 5% (вес/об.)	98,9	98,6	98,2
Пример 11	Трегалоза 10% (вес/об.)	98,9	98,6	98,2
Пример 12	Сахароза 10% (вес/об.)	98,9	98,6	98,1

Как можно видеть из табл. 14 выше, составы, содержащие сорбит, маннит, трегалозу или сахарозу в качестве сахара, демонстрировали содержание основного компонента 98% или больше после 4 недель хранения при 40°C.

Варианты зарядов (кислотные пики).

Таблица 15

	Сахар	Через 0 недель	Через 2 недели при 40°C	Через 4 недели при 40°C
Пример 5	Сорбит 5% (вес/об.)	19,6	27,2	33,9
Пример 10	Маннит 5% (вес/об.)	19,7	27,2	33,7
Пример 11	Трегалоза 10% (вес/об.)	19,6	27,3	34,0
Пример 12	Сахароза 10% (вес/об.)	19,7	27,3	33,8

Как можно видеть из табл. 15 выше, составы, содержащие сорбит, маннит, трегалозу или сахарозу в качестве сахара, демонстрировали кислотный пик 35% или меньше после 4 недель хранения при 40°C.

Количество невидимых невооруженным глазом частиц ( $\geq 1,00$  мкм,  $< 100,00$  мкм).

Таблица 16

	Сахар	Через 0 недель	Через 2 недели при 40°C	Через 4 недели при 40°C
Пример 5	Сорбит 5% (вес/об.)	6076	3957	6458
Пример 10	Маннит 5% (вес/об.)	1055	865	4595
Пример 11	Трегалоза 10% (вес/об.)	2803	1572	3554
Пример 12	Сахароза 10% (вес/об.)	1246	2416	11230

Количество невидимых невооруженным глазом частиц ( $\geq 10,00$  мкм,  $< 100,00$  мкм).

Таблица 17

	Сахар	Через 0 недель	Через 2 недели при 40°C	Через 4 недели при 40°C
Пример 5	Сорбит 5% (вес/об.)	128	11	115
Пример 10	Маннит 5% (вес/об.)	36	37	84
Пример 11	Трегалоза 10% (вес/об.)	42	13	56
Пример 12	Сахароза 10% (вес/об.)	40	42	118

Как можно видеть из табл. 16 и 17 выше, в составах, содержащих сорбит, маннит, трегалозу или сахарозу в качестве сахара, количество невидимых невооруженным глазом частиц ( $\geq 1,00$  мкм,  $< 100,00$  мкм) после 4 недель хранения при 40°C составляло 15000 или меньше, и количество невидимых невооруженным глазом частиц ( $\geq 10,00$  мкм,  $< 100,00$  мкм) после 4 недель хранения при 40°C составляло 200 или меньше.

Экспериментальный пример 4. Вид поверхностно-активного вещества и эффект хелатирующего средства.

Для получения жидких фармацевтических составов, подлежащих применению в экспериментальном примере 4, буфер, содержащий ацетат натрия, получали с обеспечением желаемого pH и добавляли в него сорбит. Затем к ним добавляли антитело и добавляли поверхностно-активное вещество или смесь

поверхностно-активного вещества и хелатирующего средства, за счет чего обеспечивается получение образцов, показанных в табл. 18 ниже. Содержание каждого компонента показано в табл. 18 ниже. Концентрация буфера означает концентрацию ацетатного аниона. Общий объем составлял 1 мл.

Таблица 18

	Содержание антитела (мг/мл)	Поверхностно-активное вещество	Сахар	Буфер	pH	Хелатирующее средство (EDTA)
<b>Пример 13</b>	120	Полисорбат 80 0,05% (вес/об.)	Сорбит 5% (вес/об.)	Ацетат натрия 10 мМ	5,0	-
<b>Пример 14</b>	120	Полисорбат 20 0,05% (вес/об.)	Сорбит 5% (вес/об.)	Ацетат натрия 10 мМ	5,0	-
<b>Пример 15</b>	120	Полоксамер 188 0,8% (вес/об.)	Сорбит 5% (вес/об.)	Ацетат натрия 10 мМ	5,0	-
<b>Сравнительный пример 13</b>	120	Полисорбат 80 0,05% (вес/об.)	Сорбит 5% (вес/об.)	Ацетат натрия 10 мМ	5,0	0,05 мг/мл
<b>Сравнительный пример 14</b>	120	Полисорбат 20 0,05% (вес/об.)	Сорбит 5% (вес/об.)	Ацетат натрия 10 мМ	5,0	0,05 мг/мл
<b>Сравнительный пример 15</b>	120	Полоксамер 188 0,8% (вес/об.)	Сорбит 5% (вес/об.)	Ацетат натрия 10 мМ	5,0	0,05 мг/мл

В составах, показанных в табл. 18 выше, измеряли их стабильности после 0, 3 и 6 недель хранения при температуре  $5\pm 3^\circ\text{C}$ , при температуре  $25\pm 2^\circ\text{C}$  и относительной влажности  $60\pm 5\%$ , и при температуре  $40\pm 2^\circ\text{C}$  и относительной влажности  $75\pm 5\%$  в закрытых условиях. Результаты измерения показаны в табл. 19-20 ниже.

Вид поверхностно-активного вещества.

Количество невидимых невооруженным глазом частиц ( $\geq 10,00$  мкм,  $< 100,00$  мкм).

Таблица 19

	Поверхностно-активное вещество	Через 0 недель при $5^\circ\text{C}$	Через 3 недели при $5^\circ\text{C}$	Через 6 недель при $5^\circ\text{C}$	Через 3 недели при $25^\circ\text{C}$	Через 6 недель при $25^\circ\text{C}$	Через 3 недели при $40^\circ\text{C}$	Через 6 недель при $40^\circ\text{C}$
<b>Пример 13</b>	Полисорбат 80 0,05% (вес/об.)	50	149	46	34	182	249	55
<b>Пример 14</b>	Полисорбат 20 0,05% (вес/об.)	581	309	103	54	90	185	279
<b>Пример 15</b>	Полоксамер 188 0,8% (вес/об.)	208	67	86	172	56	344	2050

Как можно видеть из табл. 19 выше, в составе из примера 13, содержащем полисорбат 80 в качестве поверхностно-активного вещества, количество невидимых невооруженным глазом частиц ( $\geq 10,00$  мкм,  $< 100,00$  мкм) после 6 недель хранения при  $40^\circ\text{C}$  составляло 100 или меньше (наименьшее), а в составе из примера 15, содержащем полоксамер 188 в качестве поверхностно-активного вещества, количество невидимых невооруженным глазом частиц ( $\geq 10,00$  мкм,  $< 100,00$  мкм) после 6 недель хранения при  $40^\circ\text{C}$  составляло 2000 или больше (наибольшее).

Эффект хелатирующего средства (EDTA) Скорость окисления (Met 255 тяжелой цепи).

Таблица 20

	Хелатирующее средство (EDTA)	Через 0 недель при $5^\circ\text{C}$	Через 3 недели при $5^\circ\text{C}$	Через 6 недель при $5^\circ\text{C}$	Через 3 недели при $40^\circ\text{C}$	Через 6 недель при $40^\circ\text{C}$
<b>Пример 13</b>	-	1,9	1,9	1,9	2,3	2,5
<b>Пример 14</b>	-	2,0	1,9	1,9	2,2	2,4
<b>Пример 15</b>	-	1,9	1,9	1,9	2,3	2,5
<b>Сравнительный пример 13</b>	0,05 мг/мл	1,9	1,8	1,8	2,9	3,3
<b>Сравнительный пример 14</b>	0,05 мг/мл	2,3	1,8	2,0	2,8	3,3
<b>Сравнительный пример 15</b>	0,05 мг/мл	1,8	1,9	1,9	2,8	3,4

Как можно видеть из табл. 20 выше, в составах из сравнительных примеров 13-15, содержащих хелатирующее средство (EDTA), скорость окисления Met 255 тяжелой цепи после 6 недель хранения при  $40^\circ\text{C}$  повышалась по сравнению с таковой в составах из примеров 13-15, не содержащих хелатирующее

средство (EDTA).

Экспериментальный пример 5. Долгосрочная стабильность.

Для получения жидкого фармацевтического состава, подлежащего применению в экспериментальном примере 5, буфер, содержащий ацетат натрия, получали с обеспечением pH 5,0 и добавляли в него сорбит. Затем к ним добавляли антитело и добавляли поверхностно-активное вещество, за счет чего обеспечивается получение образца, показанного в табл. 21 ниже. Содержание каждого компонента показано в табл. 21 ниже. Концентрация буфера означает концентрацию ацетатного аниона. Общий объем составлял 1 мл.

Таблица 21

	Содержание антитела (мг/мл)	Поверхностно-активное вещество	Сахар	Буфер	pH
Пример 16	120	Полисорбат 80 0,05% (вес/об.)	Сорбит 5% (вес/об.)	Ацетат натрия 25 мМ	5,0

В составе, показанном в табл. 21, измеряли его стабильность после 0, 3 и 6 месяцев хранения при температуре  $5\pm 3^\circ\text{C}$  в закрытых условиях. Результаты измерения показаны в табл. 22-27 ниже.

Количество невидимых невооруженным глазом частиц ( $\geq 10,00$  мкм,  $< 400,00$  мкм).

Таблица 22

	Через 0 месяцев при $5^\circ\text{C}$	Через 3 месяца при $5^\circ\text{C}$	Через 6 месяцев при $5^\circ\text{C}$	Через 9 месяцев при $5^\circ\text{C}$	Через 12 месяцев при $5^\circ\text{C}$
Пример 16	35	26	48	32	43

Как можно видеть из табл. 22 выше, количество невидимых невооруженным глазом частиц ( $\geq 10,00$  мкм,  $< 400,00$  мкм) в составе из примера 16 после 12 месяцев хранения при  $5^\circ\text{C}$  составляло не более 100 или меньше.

Содержание интактного иммуноглобулина (% интактного IgG).

Таблица 23

	Через 0 месяцев при $5^\circ\text{C}$	Через 3 месяца при $5^\circ\text{C}$	Через 6 месяцев при $5^\circ\text{C}$	Через 9 месяцев при $5^\circ\text{C}$	Через 12 месяцев при $5^\circ\text{C}$
Пример 16	94,6	93,9	94,3	94,4	94,4

Как можно видеть из табл. 23 выше, содержание интактного иммуноглобулина G в составе из примера 16 после 12 месяцев хранения при  $5^\circ\text{C}$  составляло не менее 94% или больше.

Содержание интактной тяжелой цепи и легкой цепи (% интактной HC+LC).

Таблица 24

	Через 0 месяцев при $5^\circ\text{C}$	Через 3 месяца при $5^\circ\text{C}$	Через 6 месяцев при $5^\circ\text{C}$	Через 9 месяцев при $5^\circ\text{C}$	Через 12 месяцев при $5^\circ\text{C}$
Пример 16	99,7	99,5	99,6	99,4	99,4

Как можно видеть из табл. 24 выше, содержание интактной тяжелой цепи и легкой цепи в составе из примера 16 после 12 месяцев хранения при  $5^\circ\text{C}$  составляло не менее 99% или больше.

Содержание высокомолекулярных компонентов.

Таблица 25

	Через 0 месяцев при $5^\circ\text{C}$	Через 3 месяца при $5^\circ\text{C}$	Через 6 месяцев при $5^\circ\text{C}$	Через 9 месяцев при $5^\circ\text{C}$	Через 12 месяцев при $5^\circ\text{C}$
Пример 16	0,5	0,9	0,9	0,8	0,7

Как можно видеть из табл. 25 выше, содержание высокомолекулярных компонентов в составе из примера 16 после 12 месяцев хранения при  $5^\circ\text{C}$  составляло не выше 1,0% или меньше.

Содержание низкомолекулярных компонентов.

Таблица 26

	Через 0 месяцев при $5^\circ\text{C}$	Через 3 месяца при $5^\circ\text{C}$	Через 6 месяцев при $5^\circ\text{C}$	Через 9 месяцев при $5^\circ\text{C}$	Через 12 месяцев при $5^\circ\text{C}$
Пример 16	0,0	0,1	0,1	0,1	0,3

Как можно видеть из табл. 26 выше, содержание низкомолекулярных компонентов в составе из примера 16 после 12 месяцев хранения при  $5^\circ\text{C}$  составляло не выше 0,4% или меньше.

Аффинность связывания с TNF- $\alpha$ .

Таблица 27

	Через 0 месяцев при $5^\circ\text{C}$	Через 3 месяца при $5^\circ\text{C}$	Через 6 месяцев при $5^\circ\text{C}$	Через 9 месяцев при $5^\circ\text{C}$	Через 12 месяцев при $5^\circ\text{C}$
Пример 16	95	98	116	101	97

Как можно видеть из табл. 27 выше, аффинность связывания с TNF- $\alpha$  состава из примера 16 после

12 месяцев хранения при 5°C составляла не менее 95% или больше.

В составе из примера 16 измеряли его вязкость после 0, 0,5, 1, 2 и 3 месяцев хранения при температуре  $40 \pm 2^\circ\text{C}$  в закрытых условиях и его вязкость после 6 месяцев хранения при температуре  $5 \pm 3^\circ\text{C}$  в закрытых условиях. Результаты измерения показаны в табл. 28 ниже.

Вязкость (сП).

Таблица 28

	Через 0 месяцев	Через 0,5 месяца при 40°C	Через 1 месяц при 40°C	Через 6 месяцев при 5°C
Пример 16	4,1	5,6	8,0	4,0

Как можно видеть из табл. 28 выше, вязкость состава из примера 16 сохранялась на низком уровне (8,0 сП) после 1 месяца хранения при температуре  $40^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$  и сохранялась на низком уровне (4,0 сП) после 6 месяцев хранения при температуре  $5^\circ\text{C} \pm 3^\circ\text{C}$ .

#### ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Стабильный жидкий фармацевтический состав, содержащий
  - (A) инфликсимаб;
  - (B) 0,001-5% (вес./об.) поверхностно-активного вещества;
  - (C) 0,1-30% (вес./об.) одного или более, выбранного из группы, состоящей из сорбита, маннита, сахарозы и трегалозы; и
  - (D) 1-50 мМ буфера, содержащего ацетат или гистидин.
2. Стабильный жидкий фармацевтический состав по п.1, где инфликсимаб (A) содержится в концентрации 10-200 мг/мл.
3. Стабильный жидкий фармацевтический состав по любому из пп.1, 2, где поверхностно-активное вещество (B) включает полисорбат, полоксамер или их смесь.
4. Стабильный жидкий фармацевтический состав по любому из пп.1-3, где поверхностно-активное вещество (B) включает полисорбат 20, полисорбат 40, полисорбат 60, полисорбат 80 или смесь двух или более из них.
5. Стабильный жидкий фармацевтический состав по любому из пп.1-4, где поверхностно-активное вещество (B) включает полисорбат 80.
6. Стабильный жидкий фармацевтический состав по любому из пп.1-5, где поверхностно-активное вещество (B) содержится в концентрации 0,02-0,1% (вес./об.).
7. Стабильный жидкий фармацевтический состав по любому из пп.1-6, где одно или более, выбранное из группы, состоящей из сорбита, маннита, сахарозы и трегалозы (C), содержится в концентрации 1-10% (вес./об.).
8. Стабильный жидкий фармацевтический состав по любому из пп.1-7, где буфер (D) содержит ацетат.
9. Стабильный жидкий фармацевтический состав по любому из пп.1-8, который имеет pH 4,0-5,5.
10. Стабильный жидкий фармацевтический состав по любому из пп.1-9, который характеризуется вязкостью от 0,5 до 10 сП после 1 месяца хранения при  $40^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$  или вязкостью от 0,5 до 5 сП после 6 месяцев хранения при  $5^\circ\text{C} \pm 3^\circ\text{C}$ .
11. Стабильный жидкий фармацевтический состав, содержащий
  - (A) 90-145 мг/мл инфликсимаба;
  - (B) 0,02-0,1% (вес./об.) поверхностно-активного вещества;
  - (C) 1-10% (вес./об.) одного или более, выбранного из группы, состоящей из сорбита, маннита, сахарозы и трегалозы; и
  - (D) 1-50 мМ буфера, содержащего ацетат или гистидин.
12. Стабильный жидкий фармацевтический состав по любому из пп.1-11, который предназначен для подкожного введения.
13. Предварительно заполненный шприц, заполненный стабильным жидким фармацевтическим составом по любому из пп.1-12.
14. Автоматическое устройство для инъекций, включающее в себя предварительно заполненный шприц по п.13.

