

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(21) **202293164** (13) **A1**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2023.02.16

(51) Int. Cl. **A61K 39/395** (2006.01)
C07K 16/24 (2006.01)
A61P 1/00 (2006.01)

(22) Дата подачи заявки
2021.05.05

**(54) СПОСОБЫ ЛЕЧЕНИЯ БОЛЕЗНИ КРОНА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ
СПЕЦИФИЧЕСКОГО АНТИТЕЛА К ИЛ-23**

(31) **63/020,120; 63/170,121; 63/180,973**

(72) Изобретатель:
**Адедокун Омоний, Чань Дафна,
Чэнь Ян, Сапар Филипп (US)**

(32) **2020.05.05; 2021.04.02; 2021.04.28**

(33) **US**

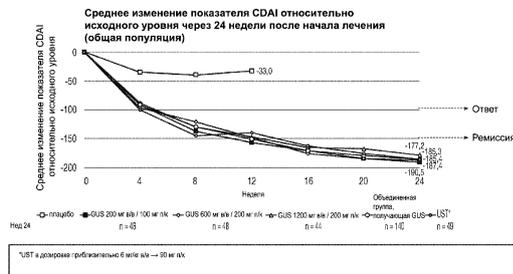
(86) **PCT/IB2021/053799**

(74) Представитель:
**Веселицкий М.Б., Кузенкова Н.В.,
Каксис Р.А., Белоусов Ю.В., Куликов
А.В., Кузнецова Е.В., Соколов Р.А.,
Кузнецова Т.В. (RU)**

(87) **WO 2021/224823 2021.11.11**

(71) Заявитель:
ЯНССЕН БАЙОТЕК, ИНК. (US)

(57) Способ лечения болезни Крона заключается во введении пациенту специфического к ИЛ-23 антитела, например гуселькумаба, в начальной дозе внутривенно и в последующих дозах подкожно, чтобы добиться ответа пациента на антитело и достигнуть одного или более клинических конечных показателей.



202293164

A1

A1

202293164

**СПОСОБЫ ЛЕЧЕНИЯ БОЛЕЗНИ КРОНА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ
СПЕЦИФИЧЕСКОГО АНТИТЕЛА К ИЛ-23**

5

**ССЫЛКА НА ПЕРЕЧЕНЬ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ, ПОДАННЫЙ В
ЭЛЕКТРОННОМ ВИДЕ**

10 Данная заявка содержит перечень последовательностей, представленный в электронном виде посредством EFS-Web как перечень последовательностей в формате ASCII, название файла JBI6310USNP1SEQLIST.txt, дата создания 3 мая 2021 г., размер 9 КБ. Перечень последовательностей, представленный посредством EFS-Web, является частью описания и полностью включен в настоящий документ путем ссылки.

ОБЛАСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ ИЗОБРЕТЕНИЯ

15 Настоящее изобретение относится к способам лечения болезни Крона с помощью антитела, которое связывает человеческий интерлейкин (ИЛ) Это способ по любому из пп. 1–14, в котором мишенью считается белок -23. В частности, изобретение относится к схемам дозирования для введения специфического антитела к ИЛ-23 и специфических фармацевтических композиций, включающих антитело, например гуселькумаб.

20

ПРЕДПОСЫЛКИ СОЗДАНИЯ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Интерлейкин (ИЛ)-12 представляет собой секретируемый гетеродимерный цитокин, состоящий из 2 связанных дисульфидной связью гликозилированных белковых субъединиц, обозначенных как р35 и р40 в соответствии с приблизительными молекулярными массами. ИЛ-12 продуцируется главным образом антигенпредставляющими клетками и стимулирует клеточно-опосредованный иммунитет посредством связывания с двухцепочечным рецепторным комплексом, который экспрессируется на поверхности Т-клеток или естественных киллерных клеток (ЕК). Цепь бета-1 рецептора ИЛ-12 (ИЛ-12R β 1) связывается с субъединицей р40 ИЛ-12, обеспечивая первичное взаимодействие между ИЛ-12 и его рецептором. Однако именно связывание ИЛ-12р35 со второй цепью рецептора, ИЛ-12R β 2, возбуждает внутриклеточный сигнал (например, фосфорилирование STAT4) и активацию несущей рецептор клетки (Presky et al, 1996). Считается, что сигнализация ИЛ-12, происходящая одновременно с представлением антигена, вызывает дифференцировку Т-клеток к

30

фенотипу Т-хелпер 1 (Th1), характеризующемуся продукцией гамма-интерферона (ИФН γ) (Trinchieri, 2003). Считается, что клетки Th1 стимулируют иммунитет к некоторым внутриклеточным патогенам, генерируют изотипы антител с фиксацией комплемента и участвуют в иммунном надзоре за опухолями. Таким образом, ИЛ-12
5 считается важным компонентом иммунных механизмов защиты хозяина.

Было обнаружено, что белковая субъединица p40 ИЛ-12 может также соединяться с отдельной белковой субъединицей, обозначенной как p19, с образованием нового цитокина, ИЛ-23 (Oppman et al, 2000). Сигнализация ИЛ-23 также осуществляется через двухцепочечный рецепторный комплекс. Поскольку субъединица
10 p40 является общей для ИЛ-12 и ИЛ-23, следовательно, цепь ИЛ-12R β 1 также является общей для ИЛ-12 и ИЛ-23. Однако именно связывание ИЛ-23p19 со вторым компонентом комплекса рецептора ИЛ-23, ИЛ-23R, возбуждает специфичную внутриклеточную сигнализацию ИЛ-23 (например, фосфорилирование STAT3) и последующую продукцию ИЛ-17 Т-клетками (Parham et al, 2002; Aggarwal et al. 2003).
15 Недавние исследования показали, что биологические функции ИЛ-23 отличаются от таковых ИЛ-12, несмотря на структурное сходство между двумя цитокинами (Langrish et al, 2005).

Ненормальную регуляцию ИЛ-12 и популяций клеток Th1 связывали со многими иммунноопосредованными заболеваниями, поскольку нейтрализация ИЛ-12
20 антителами эффективна для животных моделей лечения псориаза, рассеянного склероза (РС), ревматоидного артрита, воспалительного заболевания кишечника, инсулинозависимого сахарного диабета (1-го типа) и увеита (Leonard et al, 1995; Hong et al, 1999; Malfait et al, 1998; Davidson et al, 1998). Однако поскольку эти исследования были нацелены на общую субъединицу p40, *in vivo* происходила нейтрализация как ИЛ-
25 12, так и ИЛ-23. Поэтому было неясно, какой из двух цитокинов, ИЛ-12 или ИЛ-23, опосредовал заболевание, и необходимо ли ингибировать оба цитокина, чтобы достичь подавления заболевания. Недавние исследования на дефицитных по ИЛ-23p19 мышцах или с нейтрализацией ИЛ-23 специфичными антителами подтвердили, что ингибирование ИЛ-23 может обеспечивать положительный результат, эквивалентный
30 стратегиям против ИЛ-12p40 (Cua et al, 2003, Murphy et al, 2003, Benson et al 2004). Таким образом, появляется все больше доказательств специфичной роли ИЛ-23 в иммунноопосредованном заболевании. Следовательно, нейтрализация ИЛ-23 без ингибирования путей ИЛ-12 может обеспечить эффективную терапию иммунноопосредованного заболевания с ограниченным воздействием на важный

иммунный механизм защиты организма-хозяина. Это представляет собой значительное усовершенствование по сравнению с имеющимися вариантами терапии.

В настоящее время существует три класса биологических агентов, одобренных для лечения болезни Крона умеренного или тяжелого течения: антагонисты фактора некроза опухоли (ФНО) (инфликсимаб, адалимумаб, цертолизумаб), ингибиторы интегрина (натализумаб и ведолизумаб) и ингибиторы к ИЛ-12/23 (устекинумаб). Хотя использование биологических агентов значительно увеличило эффективность клинического ведения пациентов с болезнью Крона умеренного или тяжелого течения, значительная часть целевой популяции пациентов не отвечает на лечение или со временем теряет восприимчивость к данному лечению. Обзор имеющихся данных по одобренным биологическим агентам выявил неудовлетворенную потребность в достижении и поддержании долгосрочной ремиссии, особенно среди пациентов, которые ранее оказались невосприимчивы к лечению с помощью биологических агентов. У всех получавших лечение пациентов (т. е. у всех пациентов, которые во время исследований были рандомизированным образом распределены по группам, начиная с недели 0) частота наступления клинической ремиссии через 1 год в популяции пациентов с биологической неэффективностью или непереносимостью (BIO-Failure), составляет около 20% и колеблется в пределах от 20% до 50% в популяции пациентов с неэффективностью или непереносимостью стандартной терапии (CON-Failure).

Таким образом, в медицине остается значительная неудовлетворенная потребность в новых вариантах лечения, особенно в методах терапии с новыми механизмами действия, которые потенциально могут поднять планку эффективности и максимизировать долю пациентов, достигших и поддерживающих клиническую ремиссию.

ИЗЛОЖЕНИЕ СУЩНОСТИ ИЗОБРЕТЕНИЯ

В первом аспекте изобретение относится к способу лечения субъекта, страдающего болезнью Крона, включающему введение пациенту специфического антитела к ИЛ-23 (также называемого антителом к Ил-23p19), например, гуселькумаба, в начальной внутривенной дозе с начала лечения и до 8 недель после начала лечения, а затем подкожное введение специфического антитела к ИЛ-23 один раз каждые 4 или 8 недель, например, введение дозы в неделю 0, 4, 8, 12 или 16, 20 или 24, 28 или 32, 36 или 40, 44 или 48. Кроме того, в другом варианте осуществления изобретения подкожное введение продолжают в течение 140 недель после начала лечения.

В одном варианте осуществления изобретения субъекту сначала вводят внутривенно 1200, 600 или 200 мг специфического антитела к ИЛ-23, затем внутривенно через 4 недели и через 8 недель после начальной дозы и продолжают лечение с помощью подкожного введения антитела к ИЛ-23 в дозе 100 или 200 мг каждые 4 недели в течение 44 недель после первоначальной дозы.

В другом аспекте композиция, используемая в способе согласно настоящему изобретению, включает фармацевтическую композицию, содержащую специфическое антитело к ИЛ-23. В предпочтительном варианте осуществления изобретения специфическое антитело к ИЛ-23 представляет собой гуселькумаб в составе 7,9% (масс./об.) сахарозы, 4,0 мМ гистидина, 6,9 мМ L-гистидин моногидрохлорида моногидрата; 0,053% (масс./об.) полисорбата 80 в фармацевтической композиции; причем разбавитель представляет собой воду в стандартном состоянии.

В одном варианте осуществления изобретения пациенты с болезнью Крона достигли значительного улучшения клинических конечных показателей, выбранных из:

- (i) Изменение индекса активности болезни Крона (CDAI) на неделе 12 относительно исходного уровня. показатель CDAI будет определяться путем сбора информации о 8 различных переменных, связанных с болезнью Крона, с присвоенными баллами в диапазоне от 0 до примерно 600. Уменьшение данной величины с течением времени указывает на улучшение течения заболевания.
- (ii) Клиническая ремиссия на неделе 12, определяемая как CDAI менее ($<$) 150 баллов.
- (iii) Клинический ответ на неделе 12, определяемый как снижение показателя CDAI на 100 или более ($> =$) баллов относительно исходного уровня или CDAI $<$ 150.
- (iv) Ремиссия на основе сообщаемого пациентом результата (PRO)-2 на неделе 12, определенная на основе среднесуточной частоты стула (SF) и среднесуточной оценки боли в области живота (AP).
- (v) Ответ по клиническим показателям и биомаркерам на неделе 12 с использованием клинического ответа на основе оценки CDAI и снижения относительно исходного уровня С-реактивного белка (CRP) или фекального кальпротектина.
- (vi) Ответ на лечение на неделе 12, определенный по данным эндоскопии, на основе простого эндоскопического индекса активности болезни Крона

(SES-CD). SES-CD основана на эндоскопической оценке 4 компонентов в 5 илеоколонических участках с общим количеством баллов от 0 до 56.

- (vii) Ремиссия на неделе 12, определенная на основе эндоскопического исследования, на основе простого эндоскопического индекса активности болезни Крона (SES-CD); $SES-CD \leq 2$.
- (viii) Клиническая ремиссия на неделе 48, определяемая как показатель CDAI < 150 баллов.
- (ix) Стойкая клиническая ремиссия на неделе 48, определяемая как показатель CDAI < 150 в большинстве случаев во время всех посещений пациентом врача в период с недели 12 и до недели 48.
- (x) Клиническая ремиссия без кортикостероидов на неделе 48, определяемая как CDAI < 150 на неделе 48, и отсутствие приема кортикостероидов на неделе 48.
- (xi) PRO-2 ремиссия на неделе 48, определенная на основе среднесуточной частоты стула (SF) и среднесуточной оценки боли в области живота (AP). Реакция на усталость на 12 неделе, определяемая на основе информационной системы для оценки результатов, сообщаемых пациентом (PROMIS). Краткая форма оценки усталости 7a содержит 7 пунктов, которые оценивают тяжесть утомления, причем более высокие баллы указывают на большее утомление.
- (xii) Ответ на лечение на неделе 48, определенный по данным эндоскопии, по простой эндоскопической шкале болезни Крона (SES-CD).

В другом аспекте изобретения фармацевтическая композиция содержит выделенное антитело к ИЛ-23, которое имеет последовательности CDR гуселькумаба, содержащие (i) аминокислотную последовательность CDR тяжелой цепи SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2 и SEQ ID NO: 3; и (ii) последовательности аминокислот CDR легкой цепи SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5 и SEQ ID NO: 6, в композиции, содержащей 7,9% (масс./об.) сахарозы, 4,0 мМ гистидина, 6,9 мМ L-гистидина моногидрохлорида моногидрата; 0,053% (масс./об.) полисорбата 80 в фармацевтической композиции; причем разбавитель представляет собой воду в стандартном состоянии.

Другой аспект способа по изобретению содержит введение фармацевтической композиции, содержащей выделенное антитело к ИЛ-23, которое имеет последовательность аминокислот переменной области тяжелой цепи гуселькумаба SEQ ID NO: 7 и аминокислотную последовательность переменной области легкой

цепи гуселькумаба SEQ ID NO: 8, в композиции, содержащей 7,9% (масс./об.) сахарозы, 4,0 мМ гистидина, 6,9 мМ L-гистидина моногидрохлорида моногидрата; 0,053% (масс./об.) полисорбата 80 в фармацевтической композиции; причем разбавитель представляет собой воду в стандартном состоянии.

5 Дополнительный аспект данного способа по настоящему изобретению включает введение фармацевтической композиции, содержащей выделенное специфическое антитело к ИЛ-23, которое имеет последовательность аминокислот тяжелой цепи гуселькумаба SEQ ID NO: 9 и аминокислотную последовательность легкой цепи гуселькумаба SEQ ID NO: 10, в композиции, содержащей 7,9% (масс./об.) сахарозы, 4,0
10 мМ гистидина, 6,9 мМ L-гистидина моногидрохлорида моногидрата; 0,053% (масс./об.) полисорбата 80 в фармацевтической композиции; причем разбавитель представляет собой воду в стандартном состоянии.

 Подробности одного или более вариантов осуществления изобретения изложены в описании ниже. Другие особенности и преимущества будут очевидны из следующего
15 подробного описания, фигур и прилагаемой формулы изобретения.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ГРАФИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ

Ниже представлено описание фигур.

На **ФИГ. 1** показано среднее изменение показателя CDAI относительно исходного уровня в общей популяции через 24 недели после начала лечения.

20 На **ФИГ. 2** показано среднее изменение показателя CDAI относительно исходного уровня в популяции пациентов с неэффективностью или непереносимостью биологической терапии (BIO-Failure), через 24 недели после начала лечения.

 На **ФИГ. 3** показано среднее изменение показателя CDAI относительно исходного уровня в популяции пациентов с неэффективностью или непереносимостью
25 традиционной терапии (CON-Failure) через 24 недели после начала лечения.

 На **ФИГ. 4** показаны клинический ответ и клиническая ремиссия пациентов через 24 недели после начала лечения.

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ ПРЕДПОЧТИТЕЛЬНЫХ ВАРИАНТОВ 30 ОСУЩЕСТВЛЕНИЯ

Описанный в настоящем документе способ лечения субъекта, страдающего болезнью Крона, включает введение выделенных рекомбинантных и/или синтетических специфических человеческих антител к ИЛ-23, а также диагностические и терапевтические композиции, способы и устройства.

В контексте настоящего документа термины «специфичное к ИЛ-23 антитело», «антитело к ИЛ-23», «участок антитела» или «фрагмент антитела» и/или «вариант антитела» и т. п. включают любой белок или пептид, который содержит по меньшей мере часть молекулы иммуноглобулина, такую как, без ограничений, по меньшей мере одна определяющая комплементарность (CDR) область тяжелой или легкой цепи, либо ее связывающий лиганд участок, переменная область тяжелой цепи или легкой цепи, константная область тяжелой цепи или легкой цепи, каркасная область или любая их часть, либо, по меньшей мере, один участок рецептора или связывающего белка ИЛ-23, который можно встраивать в антитело настоящего изобретения. Необязательно такое антитело дополнительно воздействует на специфичный лиганд, например, без ограничений, такое антитело модулирует, снижает, повышает, выступает антагонистом, выступает агонистом, уменьшает, ослабляет, блокирует, ингибирует, уничтожает и/или препятствует по меньшей мере одной активности или связыванию ИЛ-23, либо активности или связыванию рецептора ИЛ-23 *in vitro*, *in situ* и/или *in vivo*. В качестве не имеющего ограничительного характера примера приемлемое антитело к ИЛ-23, его определенный участок или вариант настоящего изобретения может связываться с по меньшей мере одной молекулой ИЛ-23 или ее определенными участками, вариантами или доменами. Приемлемое антитело к ИЛ-23, его определенный участок или вариант также может необязательно влиять на по меньшей мере один вид активности или функции ИЛ-23, например, без ограничений, синтез РНК, ДНК или белка, высвобождение ИЛ-23, сигнализацию рецептора ИЛ-23, расщепление мембранного ИЛ-23, активность ИЛ-23, продукцию и/или синтез ИЛ-23.

Предполагается, что термин «антитело» будет дополнительно охватывать антитела, фрагменты расщепления, их определенные участки и варианты, включая миметики антител, или содержать участки антител, которые имитируют структуру и/или функцию антитела или его определенного фрагмента или участка, включая одноцепочечные антитела и их фрагменты. Функциональные фрагменты включают антигенсвязывающие фрагменты, которые связываются с ИЛ-23 млекопитающего. Например, изобретение охватывает фрагменты антитела, способные связываться с ИЛ-23 или его участками, включая без ограничений фрагменты Fab (например, после расщепления папаином), Fab' (например, после расщепления пепсином и частичного восстановления) и F(ab')₂ (например, после расщепления пепсином), Fabc (например, после расщепления плазмином), rFc' (например, после расщепления пепсином или плазмином), Fd (например, после расщепления пепсином, частичного восстановления и

реагрегации), Fv или scFv (например, полученные способами молекулярной биологии) (см., например, Colligan, Immunology, выше).

Такие фрагменты можно получать путем ферментативного расщепления, способами синтеза или рекомбинации, известными в данной области и/или описанными в настоящем документе. Антитела можно также продуцировать в различных укороченных формах с помощью генов антител, в которых один или более стоп-кодона были введены выше естественного сайта терминации. Например, возможно создание комбинированного гена, кодирующего участок тяжелой цепи F(ab')₂, который может включать последовательности ДНК, кодирующие домен C_H1 и/или шарнирную область тяжелой цепи. Различные участки антител можно химически соединять стандартными способами или получать в виде единого белка способами генной инженерии.

В контексте настоящего документа термин «человеческое антитело» относится к антителу, в котором по существу каждая часть белка (например, CDR, каркас, домены C_L, C_H (например, C_H1, C_H2, C_H3), шарнир, домены V_L, V_H) является по существу неиммуногенной у человека, лишь с незначительными изменениями или вариациями последовательности. «Человеческое антитело» также может представлять собой антитело, которое получено из последовательностей иммуноглобулина зародышевой линии человека, или близко соответствует им. Человеческие антитела могут включать остатки аминокислот, не кодируемые последовательностями иммуноглобулина зародышевой линии (например, мутации, введенные случайным или сайт-специфичным мутагенезом *in vitro*, или соматической мутацией *in vivo*). Часто это означает, что человеческое антитело является по существу неиммуногенным у человека.

Человеческие антитела классифицируют в группы на основании сходства их аминокислотных последовательностей. Таким образом, посредством поиска по сходству последовательностей можно выбирать антитело со сходной линейной последовательностью в качестве шаблона для создания человеческого антитела. Аналогично антитела определенного примата (обезьяна, павиан, шимпанзе и т. д.), грызуна (мышь, крыса, кролик, морская свинка, хомяк и т. п.) и других млекопитающих определяют особенностями антител такого вида, подрода, рода, подсемейства и семейства. Химерные антитела могут дополнительно включать любую комбинацию, указанную выше. Из-за таких изменений или вариаций необязательно и предпочтительно сохраняется или ослабевает иммуногенность у человека или другого

вида относительно немодифицированных антител. Таким образом, человеческое антитело отличается от химерного или гуманизированного антитела.

Следует отметить, что человеческое антитело может быть спродуцировано не относящимся к человеку животным, либо прокариотической или эукариотической клеткой, которая способна экспрессировать функционально перестроенные гены человеческих иммуноглобулинов (например, тяжелую цепь и/или легкую цепь). Когда человеческое антитело является одноцепочечным антителом, оно может дополнительно содержать линкерный пептид, который отсутствует в нативных человеческих антителах. Например, Fv может содержать линкерный пептид, такой как от двух до около восьми остатков глицина или других аминокислот, который соединяет переменную область тяжелой цепи и переменную область легкой цепи. Считается, что такие линкерные пептиды имеют человеческое происхождение.

Можно также применять биспецифические, гетероспецифические, гетероконъюгатные или подобные антитела, которые представляют собой моноклональные, предпочтительно человеческие или гуманизированные антитела, обладающие специфичностью связывания с по меньшей мере двумя различными антигенами. В данном случае одна из специфичностей связывания относится по меньшей мере к одному белку ИЛ-23, а другая – к любому другому антигену. Способы получения биспецифических антител известны специалистам в данной области. Обычно рекомбинантная продукция биспецифических антител основана на коэкспрессии двух пар тяжелая цепь / легкая цепь иммуноглобулинов, причем две тяжелые цепи обладают различными видами специфичности (Milstein and Cuello, Nature 305:537 (1983)). Из-за случайного распределения тяжелых и легких цепей иммуноглобулинов эти гибридомы (квадромы) образуют смесь из 10 различных возможных молекул антител, причем только одна из них имеет правильную биспецифическую структуру. Очистка правильной молекулы, которую обычно выполняют путем аффинной хроматографии, является довольно трудоемким процессом с низким выходом продукта. Аналогичные процедуры описаны, например, в WO 93/08829, патентах США № 6210668, 6193967, 6132992, 6106833, 6060285, 6037453, 6010902, 5989530, 5959084, 5959083, 5932448, 5833985, 5821333, 5807706, 5643759, 5601819, 5582996, 5496549, 4676980, публикациях WO 91/00360, WO 92/00373, EP 03089, Traunecker et al., EMBO J. 10:3655 (1991), Suresh et al., Methods in Enzymology 121:210 (1986), каждая из которых полностью включена в настоящий документ путем ссылки.

Специфичные к ИЛ-23 антитела (также называемые антителами, специфичными к ИЛ-23) (или антителами к ИЛ-23), используемые в способах и композициях настоящего изобретения, могут необязательно характеризоваться высокой аффинностью связывания с ИЛ-23, причем необязательно и предпочтительно они имеют низкую токсичность. В частности, в настоящем изобретении используют антитело, определенный фрагмент или вариант изобретения, причем отдельные компоненты, такие как переменная область, константная область и каркас, по отдельности и/или в совокупности, необязательно и предпочтительно имеют низкую иммуногенность. Антитела, которые можно использовать в изобретении, необязательно характеризуются способностью оказывать лечебное действие на пациентов в течение продолжительного периода с поддающимся измерению ослаблением симптомов и низкой и/или приемлемой токсичностью. Низкая или допустимая иммуногенность и/или высокая аффинность, а также другие приемлемые свойства могут способствовать достижению терапевтических результатов. Под «низкой иммуногенностью» в настоящем документе понимают индукцию значительного повышения уровня антител НАНА (человеческие античеловеческие антитела), НАСА (человеческие антихимерные антитела) или НАМА (человеческие антимышиные антитела) у менее чем около 75% или предпочтительно у менее чем около 50% получающих лечение пациентов, и/или индукцию низких титров у получающих лечение пациентов (менее приблизительно 1 : 300, предпочтительно менее приблизительно 1 : 100) по результатам измерения иммуноферментным анализом методом двойных антигенов) (см. публикацию Elliott *et al.*, *Lancet* 344:1125–1127 (1994), которая полностью включена в настоящий документ путем ссылки). Термин «низкая иммуногенность» также можно определить как появление титруемых уровней антител к антителу к ИЛ-23 у пациентов, получавших лечение антителом к ИЛ-23, у менее 25% получавших лечение пациентов, предпочтительно у менее 10% пациентов, получавших лечение рекомендованной дозой в течение рекомендованного курса терапии в период лечения.

Термин «безопасный», относящийся к дозе, схеме дозирования, лечению или способу с использованием антитела к ИЛ-23 по настоящему изобретению (например, антитело к ИЛ-23, гуселькумаб), обозначает относительно низкую или уменьшенную частоту и/или низкую или уменьшенную тяжесть связанных с лечением нежелательных явлений (называемых «нежелательными явлениями» (НЯ) или «связанными с лечением нежелательными явлениями» (СЛНЯ)) в результате проведенных клинических исследований, например фазы 2 клинических исследований и ранее, по сравнению со

стандартным лечением или с другим препаратом, используемым для сравнения.

Нежелательное явление — это неблагоприятное медицинское событие у пациента, которому ввели лекарственный препарат. В частности, термин «безопасный», относящийся к дозе, схеме дозирования или лечению с использованием антитела к ИЛ-23 по настоящему изобретению, означает относительно низкую или уменьшенную частоту и/или низкую или уменьшенную степень тяжести нежелательных явлений, связанных с введением антитела, если такой результат применения антитела к ИЛ-23 считается возможным, вероятным или очень вероятным.

Полезные свойства

Выделенные нуклеиновые кислоты по настоящему изобретению можно использовать для получения по меньшей мере одного антитела к ИЛ-23 или его специфичного варианта, которые можно использовать для измерения или воздействия на клетку, ткань, орган или животное (включая млекопитающих и человека) для диагностики, мониторинга, модуляции, лечения, ослабления, предотвращения возникновения или уменьшения симптомов болезни Крона.

Такой способ может включать введение эффективного количества композиции или фармацевтической композиции, содержащей по меньшей мере одно антитело к ИЛ-23, в клетку, ткань, орган, организм животного или пациента, которым требуется такое модулирование, лечение, ослабление, предотвращение или уменьшение симптомов, эффектов или механизмов. Эффективное количество может содержать количество от около 0,001 до 500 мг/кг для однократного (например, болюсного), многократного или непрерывного введения, или для достижения концентрации в сыворотке крови 0,01–5000 мкг/мл при однократном, многократном или непрерывном введении, или любой эффективный интервал или значение, как установлено и определено с применением известных способов, описанных в настоящем документе или известных специалистам в соответствующих областях.

Ссылки

Все цитируемые в настоящем документе публикации или патенты, будь они указаны конкретно или нет, полностью включены в настоящий документ путем ссылки, поскольку они показывают уровень развития на момент настоящего изобретения и/или предоставляют описание и необходимую информацию для настоящего изобретения. К публикациям относятся любые научные или патентные публикации, или любая информация, доступная на любых носителях, включая все форматы записи, электронные и печатные форматы. Следующие ниже источники полностью включены в

настоящий документ путем ссылки: Ausubel, et al., ed., Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons, Inc., NY, NY (1987–2001); Sambrook, et al., Molecular Cloning: a Laboratory Manual, 2nd Edition, Cold Spring Harbor, NY (1989); Harlow and Lane, Antibodies, a Laboratory Manual, Cold Spring Harbor, NY (1989); Colligan, et al., eds., Current Protocols in Immunology, John Wiley & Sons, Inc., NY (1994–2001); Colligan et al., Current Protocols in Protein Science, John Wiley & Sons, NY, NY, (1997–2001).

Антитела по настоящему изобретению – получение и генерация

По меньшей мере одно антитело к ИЛ-23, применяемое в способе настоящего изобретения, можно необязательно продуцировать в клеточной линии, смешанной клеточной линии, иммортализованной клетке или клональной популяции иммортализованных клеток, как хорошо известно специалистам в данной области. См., например, публикации Ausubel, et al., ed., Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons, Inc., NY, NY (1987-2001); Sambrook, et al., Molecular Cloning: a Laboratory Manual, 2nd Edition, Cold Spring Harbor, NY (1989); Harlow and Lane, Antibodies, a Laboratory Manual, Cold Spring Harbor, NY (1989); Colligan, et al., eds., Current Protocols in Immunology, John Wiley & Sons, Inc., NY (1994–2001); Colligan et al., Current Protocols in Protein Science, John Wiley & Sons, NY, NY, (1997–2001), каждая из которых полностью включена в настоящий документ путем ссылки.

Предпочтительное антитело к ИЛ-23 представляет собой гуселькумаб (также называемое CNTO1959), имеющий аминокислотную последовательность вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 7 и аминокислотную последовательность вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 8, а также имеющий аминокислотные последовательности области CDR тяжелой цепи SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2 и SEQ ID NO: 3; и аминокислотные последовательности CDR легкой цепи SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5 и SEQ ID NO: 6. Другие антитела к ИЛ-23 имеют последовательности, перечисленные в настоящем документе, и описаны в патенте США № 7,935,344, содержание которого полностью включено в настоящий документ путем ссылки).

Человеческие антитела, специфичные к человеческим белкам ИЛ-23 или их фрагментам, можно получать в ответ на соответствующий иммуногенный антиген, такой как выделенный белок ИЛ-23 и/или его участок (включая синтетические молекулы, такие как синтетические пептиды). Другие специфичные или общие антитела млекопитающих можно получать аналогичным образом. Получение иммуногенных антигенов и продукцию моноклонального антитела можно выполнять любым приемлемым способом.

В одном подходе гибридомы продуцируют путем слияния приемлемой иммортализованной клеточной линии (например, клеточной линии миеломы, такой как, без ограничений, Sp2/0, Sp2/0-AG14, NSO, NS1, NS2, AE-1, L.5, L243, P3X63Ag8.653, Sp2 SA3, Sp2 MAI, Sp2 SS1, Sp2 SA5, U937, MLA 144, ACT IV, MOLTA, DA-1, JURKAT, WEHI, K-562, COS, RAI, NIH 3T3, HL-60, MLA 144, NAMALWA, NEURO 2A или т. п., или гетеромиелом, их продуктов слияния или любых клеток или слитых клеток, полученных из них, или любой другой приемлемой клеточной линии, известной в данной области) (см., например, www.atcc.org, www.lifetech.com. и т. п.), с продуцирующими антитела клетками, такими как, без ограничений, выделенные или клонированные клетки селезенки, периферической крови, лимфы, миндалин или другие иммунные клетки, или клетки с В-клетками или любыми другими клетками, экспрессирующими последовательности константной, или вариабельной, или каркасной областей, или CDR тяжелой или легкой цепи, в виде либо эндогенной, либо гетерологичной нуклеиновой кислоты, в виде рекомбинантной или эндогенной геномной ДНК, кДНК, рДНК, митохондриальной ДНК или РНК, хлоропластной ДНК или РНК, гетерогенной ядерной (гя) РНК, мРНК, тРНК, одно-, двух- или трехцепочечной, гибридной и т. п. или любой их комбинации, происходящей из вирусов, бактерий, водорослей, прокариот, земноводных, насекомых, рептилий, рыб, млекопитающих, грызунов, лошадей, овец, коз, баранов, приматов, зукариот. См., например, Ausubel, выше, и Colligan, Immunology, выше, глава 2, полностью включенные в настоящий документ путем ссылки.

Клетки, продуцирующие антитела, можно также получать из периферической крови или предпочтительно из селезенки или лимфатических узлов человека или других приемлемых животных, которые были иммунизированы интересующим антигеном. Для экспрессии гетерологичной или эндогенной нуклеиновой кислоты, кодирующей антитело, его определенный фрагмент или вариант настоящего изобретения, можно также использовать любую другую приемлемую клетку-хозяина. Слитые клетки (гибридомы) или рекомбинантные клетки можно выделять с помощью селективных условий культивирования или других известных приемлемых способов и клонировать путем предельного разведения или сортировки клеток или других известных способов. Клетки, продуцирующие антитела с требуемой специфичностью, могут быть выбраны с помощью приемлемого анализа (например, ИФА).

Можно применять другие приемлемые способы продукции или выделения антител требуемой специфичности, включая, без ограничений, способы отбора

рекомбинантного антитела из библиотеки пептидов или белков (например, без ограничений, библиотеки дисплея бактериофагов, рибосом, олигонуклеотидов, РНК, кДНК или т. п.; например, производства компаний Cambridge antibody Technologies, Cambridgeshire, Великобритания; MorphoSys, Martinsreid/Planegg, Германия; Biovation, 5 Aberdeen, Scotland, Великобритания; BioInvent, Lund, Швеция; Dyax Corp., Enzon, Affymax/Biosite; Хома, Berkeley, штат Калифорния, США; Ixsys. См., например, EP 368,684, PCT/GB91/01134; PCT/GB92/01755; PCT/GB92/002240; PCT/GB92/00883; PCT/GB93/00605; US 08/350260 (12.05.94); PCT/GB94/01422; PCT/GB94/02662; PCT/GB97/01835; (CAT/MRC); WO90/14443; WO90/14424; WO90/14430; 10 PCT/US94/1234; WO92/18619; WO96/07754; (Scripps); WO96/13583, WO97/08320 (MorphoSys); WO95/16027 (BioInvent); WO88/06630; WO90/3809 (Dyax); US 4,704,692 (Enzon); PCT/US91/02989 (Affymax); WO89/06283; EP 371 998; EP 550 400; (Хома); EP 229 046; PCT/US91/07149 (Ixsys); или стохастически полученных пептидов или белков — US 5723323, 5763192, 5814476, 5817483, 5824514, 5976862, WO 86/05803, EP 15 590 689 (Ixsys, предварительная публикация в Applied Molecular Evolution (AME); причем каждая из них включена в настоящий документ путем ссылки)), или способами, основанными на иммунизации трансгенных животных (например, мышей SCID, см. Nguyen et al., Microbiol. Immunol. 41:901-907 (1997); Sandhu et al., Crit. Rev. Biotechnol. 16:95-118 (1996); Eren et al., Immunol. 93:154–161 (1998), причем каждая публикация 20 полностью включена в настоящий документ путем ссылки, как и смежные патенты и заявки), которые способны продуцировать набор человеческих антител, как известно специалистам в данной области и/или описано в настоящем документе. Такие методики включают, без ограничений, рибосомный дисплей (Hanes et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 94:4937–4942 (May 1997); Hanes et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 95:14130–14135 25 (Nov. 1998)); технологии продукции антител из одиночной клетки (например, способ получения антител из отобранных лимфоцитов (SLAM) (патент США № 5,627,052, Wen et al., J. Immunol. 17:887-892 (1987); Babcook et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 93:7843–7848 (1996)); микрокаплю в геле и проточную цитометрию (Powell et al., Biotechnol. 8:333-337 (1990); One Cell Systems, Cambridge, MA; Gray et al., J. Imm. Meth. 30 182:155-163 (1995); Kenny et al., Bio/Technol. 13:787-790 (1995)); отбор В-клеток (Steenbakkers et al., Molec. Biol. Reports 19:125–134 (1994); Jonak et al., Progress Biotech, Vol. 5, In Vitro Immunization in Hybridoma Technology, Borrebaeck, ed., Elsevier Science Publishers B.V., Amsterdam, Netherlands (1988)).

Кроме того, можно применять и хорошо известные специалистам в данной области способы конструирования или гуманизации нечеловеческих или человеческих антител. По существу гуманизованное или модифицированное генной инженерией антитело имеет один или более аминокислотных остатков из источника, не относящегося к человеку, например, без ограничений, мыши, крысы, кролика, приматов (исключая человека) или других млекопитающих. Эти аминокислотные остатки нечеловеческого происхождения заменяют остатками, которые часто называют «импортированными» остатками, поскольку их обычно берут из «импортированных» переменных, константных или других доменов известной человеческой последовательности.

Описание известных последовательностей Ig человека приведено, например, на веб-сайтах: www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi; www.ncbi.nih.gov/igblast; www.atcc.org/phage/hdb.html; www.mrc-cpe.cam.ac.uk/ALIGNMENTS.php; www.kabatdatabase.com/top.html; [ftp.ncbi.nih.gov/repository/kabat](ftp://ncbi.nih.gov/repository/kabat); www.sciquest.com; www.abcam.com; www.antibodyresource.com/onlinecomp.html; www.public.iastate.edu/~pedro/research_tools.html; www.whfreeman.com/immunology/CH05/kuby05.htm; www.hhmi.org/grants/lectures/1996/vlab; www.path.cam.ac.uk/~mrc7/mikeimages.html; mcb.harvard.edu/BioLinks/Immunology.html; www.immunologylink.com; pathbox.wustl.edu/~hcenter/index.html; www.appliedbiosystems.com; www.nal.usda.gov/awic/pubs/antibody; www.m.ehime-u.ac.jp/~yasuhito/Elisa.html; www.biodesign.com; www.cancerresearchuk.org; www.biotech.ufl.edu; www.isac-net.org; baserv.uci.kun.nl/~jraats/links1.html; www.recab.uni-hd.de/immuno.bme.nwu.edu; www.mrc-cpe.cam.ac.uk; www.ibt.unam.mx/vir/V_mice.html; <http://www.bioinf.org.uk/abs>; antibody.bath.ac.uk; www.unizh.ch; www.cryst.bbk.ac.uk/~ubcg07s; www.nimr.mrc.ac.uk/CC/ccaewg/ccaewg.html; www.path.cam.ac.uk/~mrc7/humanisation/ТАННР.html; www.ibt.unam.mx/vir/structure/stat_aim.html; www.biosci.missouri.edu/smithgp/index.html; www.jerini.de; см. также Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, U.S. Dept. Health (1983), причем каждый из них полностью включен в настоящий документ путем ссылки.

Как известно специалистам в данной области, такие импортированные последовательности можно применять для снижения иммуногенности или для снижения, усиления или модификации связывания, аффинности, скорости ассоциации,

скорости диссоциации, авидности, специфичности, периода полужизни или любой другой приемлемой характеристики. В целом остатки CDR напрямую и в очень значительной степени влияют на связывание с антигеном. Соответственно, сохраняются частично или все нечеловеческие или человеческие последовательности CDR, а нечеловеческие последовательности переменных и константных областей можно заменять человеческими или иными аминокислотами.

Антитела можно также необязательно гуманизировать или конструировать человеческие антитела с сохранением высокой аффинности к антигену и иных благоприятных биологических свойств. Для достижения этой цели гуманизированные (или человеческие) антитела можно необязательно получать в процессе анализа исходных последовательностей и различных концептуальных гуманизированных продуктов с помощью трехмерных моделей исходных и гуманизированных последовательностей. Трехмерные модели иммуноглобулина являются общедоступными и известными специалистам в данной области. Существуют компьютерные программы, демонстрирующие и отображающие вероятные трехмерные конформационные структуры выбранных потенциальных последовательностей иммуноглобулина. Исследование этих изображений позволяет анализировать вероятную роль остатков в функционировании иммуноглобулиновой последовательности кандидата, т. е. проводить анализ остатков, которые влияют на способность иммуноглобулина кандидата связывать свой антиген. Таким образом, из типичных совпадающих и импортированных последовательностей можно выбирать и комбинировать остатки каркасной области (FR) так, чтобы получить требуемую характеристику антитела, например повышенную аффинность к целевому (-ым) антигену (-ам).

Кроме того, человеческое антитело, специфичное к ИЛ-23, применяемое в способе настоящего изобретения, может содержать каркас легкой цепи зародышевой линии человека. В конкретных вариантах осуществления последовательность легкой цепи зародышевой линии выбрана из последовательностей VK человека, включая, без ограничений, A1, A10, A11, A14, A17, A18, A19, A2, A20, A23, A26, A27, A3, A30, A5, A7, B2, B3, L1, L10, L11, L12, L14, L15, L16, L18, L19, L2, L20, L22, L23, L24, L25, L4/18a, L5, L6, L8, L9, O1, O11, O12, O14, O18, O2, O4 и O8. В определенных вариантах осуществления этот каркас легкой цепи зародышевой линии человека выбран из V1-11, V1-13, V1-16, V1-17, V1-18, V1-19, V1-2, V1-20, V1-22, V1-3, V1-4, V1-5, V1-7, V1-9,

V2-1, V2-11, V2-13, V2-14, V2-15, V2-17, V2-19, V2-6, V2-7, V2-8, V3-2, V3-3, V3-4, V4-1, V4-2, V4-3, V4-4, V4-6, V5-1, V5-2, V5-4 и V5-6.

В других вариантах осуществления человеческое антитело специфичное к ИЛ-23, применяемое в способе настоящего изобретения, может содержать каркас тяжелой цепи зародышевой линии человека. В конкретных вариантах осуществления этот
5 каркас тяжелой цепи зародышевой линии человека выбран из VH1-18, VH1-2, VH1-24, VH1-3, VH1-45, VH1-46, VH1-58, VH1-69, VH1-8, VH2-26, VH2-5, VH2-70, VH3-11, VH3-13, VH3-15, VH3-16, VH3-20, VH3-21, VH3-23, VH3-30, VH3-33, VH3-35, VH3-38, VH3-43, VH3-48, VH3-49, VH3-53, VH3-64, VH3-66, VH3-7, VH3-72, VH3-73, VH3-74,
10 VH3-9, VH4-28, VH4-31, VH4-34, VH4-39, VH4-4, VH4-59, VH4-61, VH5-51, VH6-1 и VH7-81.

В конкретных вариантах осуществления вариабельная область легкой цепи и/или вариабельная область тяжелой цепи содержит каркасную область или по меньшей мере участок каркасной области (например, содержащий 2 или 3 подобласти,
15 такие как FR2 и FR3). В определенных вариантах осуществления по меньшей мере FRL1, FRL2, FRL3 или FRL4 является полностью человеческим. В других вариантах осуществления по меньшей мере FRH1, FRH2, FRH3 или FRH4 является полностью человеческим. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере FRL1, FRL2, FRL3 или FRL4 представляет собой последовательность зародышевой линии
20 (например, зародышевой линии человека) или содержит типичные совпадающие последовательности человека для данной каркасной области (широкодоступные из источников известных последовательностей Ig человека, описанных выше). В других вариантах осуществления по меньшей мере FRH1, FRH2, FRH3 или FRH4 представляет собой последовательность зародышевой линии (например, зародышевой линии
25 человека) или содержит типичные совпадающие последовательности человека для данной каркасной области. В предпочтительных вариантах осуществления каркасная область представляет собой полностью человеческую каркасную область.

Гуманизацию или конструирование антител настоящего изобретения можно выполнять с помощью любого известного способа, такого как, без ограничений,
30 способ, описанный в: Winter (Jones et al., Nature 321:522 (1986); Riechmann et al., Nature 332:323 (1988); Verhoeven et al., Science 239:1534 (1988)), Sims et al., J. Immunol. 151: 2296 (1993); Chothia and Lesk, J. Mol. Biol. 196:901 (1987), Carter et al., Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 89:4285 (1992); Presta et al., J. Immunol. 151:2623 (1993), патентах США №: 5723323, 5976862, 5824514, 5817483, 5814476, 5763192, 5723323, 5,766886, 5714352,

6204023, 6180370, 5693762, 5530101, 5585089, 5225539; 4816567, PCT: US98/16280, US96/18978, US91/09630, US91/05939, US94/01234, GB89/01334, GB91/01134, GB92/01755; WO90/14443, WO90/14424, WO90/14430, EP 229246, причем каждый полностью включен в настоящий документ путем ссылки, включая приведенные в нем ссылки.

В определенных вариантах осуществления антитело содержит измененную (например, мутантную) область Fc. Например, в некоторых вариантах осуществления область Fc была изменена для ослабления или усиления эффекторных функций антитела. В некоторых вариантах осуществления область Fc представляет собой изотип, выбранный из IgM, IgA, IgG, IgE или другого изотипа. Альтернативно или дополнительно можно использовать сочетание модификаций аминокислот с одной или более дополнительными модификациями аминокислот, которые изменяют связывание с C1q и/или функцию комплементзависимой цитотоксичности в области Fc молекулы, связывающей ИЛ-23. Особый интерес может представлять такой начальный полипептид, который связывается с C1q и проявляет комплементзависимую цитотоксичность (CDC). Полипептиды с исходной активностью связывания с C1q, необязательно дополнительно обладающие способностью опосредовать CDC, можно модифицировать так, чтобы одна или обе этих активности усиливались. Модификации аминокислот, которые приводят к изменению C1q и/или модифицируют его функцию комплементзависимой цитотоксичности, описаны, например, в публикации WO0042072, которая включена в настоящий документ путем ссылки.

Как описано выше, можно сконструировать Fc-область человеческого специфичного антитела к ИЛ-23 по настоящему изобретению с измененной эффекторной функцией, например, путем модификации связывания C1q и/или связывания FcγR и, таким образом, изменения активности комплементзависимой цитотоксичности (CDC) и/или активности антителозависимой клеточно-опосредованной цитотоксичности (ADCC). «Эффекторные функции» отвечают за активацию или уменьшение биологической активности (например, у субъекта). Примеры эффекторных функций включают, без ограничений: связывание с C1q; CDC; связывание с Fc-рецептором; ADCC; фагоцитоз; угнетение рецепторов клеточной поверхности (например, рецептора В-клеток; BCR) и т. д. Для таких эффекторных функций может потребоваться, чтобы область Fc была объединена со связывающим доменом (например, переменным доменом антитела), и можно их оценивать с

помощью различных анализов (например, анализ связывания Fc, анализ ADCC, анализ CDC и т. д.).

Например, возможно создать вариантную Fc-область человеческого антитела к ИЛ-23 (или антитела к ИЛ-23) с улучшенным связыванием C1q и с улучшенным
5 связыванием FcγRIII (например, с повышенной активностью ADCC и повышенной активностью CDC). В альтернативном варианте осуществления, если требуется снизить или устранить эту эффекторную функцию, можно конструировать вариантную Fc-
10 область со сниженной активностью CDC и/или со сниженной активностью ADCC. В других вариантах осуществления можно повысить только одну из этих активностей и необязательно также снизить другую активность (например, создать вариант области Fc с повышенной активностью ADCC, но со сниженной активностью CDC, и наоборот).

Мутации Fc можно также вводить в конструкции для изменения их взаимодействия с неонатальным рецептором Fc (FcRn) и улучшения их фармакокинетических свойств. Была описана коллекция вариантов Fc человека с
15 улучшенным связыванием с FcRn (Shields et al., (2001). High resolution mapping of the binding site on human IgG1 for FcγRI, FcγRII, FcγRIII, and FcRn and design of IgG1 variants with improved binding to the FcγR, J. Biol. Chem. 276:6591-6604).

Другой тип замены аминокислот служит для изменения модели гликозилирования области Fc человеческого антитела, специфичного к ИЛ-23.
20 Гликозилирование области Fc является, как правило, либо N-связанным, либо O-связанным. N-связанное гликозилирование относится к присоединению углеводной функциональной группы к боковой цепи остатка аспарагина. O-связанное гликозилирование относится к присоединению одного из сахаров: N-ацетилгалактозамина, галактозы или ксилозы, к гидроксиаминокислоте, чаще всего к серину или треонину, хотя также можно воспользоваться 5-гидроксипролином или 5-
25 гидроксизином. Распознаваемые последовательности для ферментативного присоединения углеводного звена к пептидным последовательностям с боковой цепью аспарагина представляют собой аспарагин-X-серин и аспарагин-X-треонин, причем X — любая аминокислота, за исключением пролина. Таким образом, наличие любой из
30 этих пептидных последовательностей в полипептиде создает потенциальный сайт гликозилирования.

Модель гликозилирования можно изменять, например, путем удаления одного или более сайтов гликозилирования, находящихся в полипептиде, и/или добавлением

одного или более сайтов гликозилирования, которые отсутствуют в полипептиде. Добавление сайтов гликозилирования к области Fc человеческого специфического антитела к ИЛ-23 удобно проводить путем изменения аминокислотной последовательности так, чтобы она содержала одну или более из описанных выше трипептидных последовательностей (для сайтов N-связанного гликозилирования). Иллюстративный вариант гликозилирования имеет замену аминокислотного остатка Asn 297 в тяжелой цепи. Изменение также можно проводить добавлением или заменой одного или более из остатков серина или треонина в последовательности исходного полипептида (для сайтов O-связанного гликозилирования). Кроме того, замена Asn 297 на Ala может приводить к удалению одного из сайтов гликозилирования.

В некоторых вариантах осуществления человеческое антитело, специфичное к ИЛ-23, настоящего изобретения экспрессируется в клетках, в которых экспрессируется бета-(1,4)-N-ацетилглюкозаминилтрансфераза III (GnT III) так, что GnT III присоединяет GlcNAc к человеческому антителу к ИЛ-23. Способы продукции антител таким путем представлены в WO/9954342, WO/03011878, патентной публикации 20030003097A1 и публикации Umana et al., Nature Biotechnology, 17: 176–180, Feb. 1999; причем каждая из них конкретно полностью включена в настоящий документ путем ссылки.

Антитело к ИЛ-23 также можно необязательно создавать путем иммунизации трансгенного животного (например, мыши, крысы, хомяка, примата (за исключением человека) и т. п.), способных продуцировать набор человеческих антител, как описано в настоящем документе и/или как известно специалистам в данной области. Клетки, которые продуцируют человеческие антитела к ИЛ-23, можно выделять из организма таких животных и иммортализовать с использованием приемлемых способов, таких как описаны в настоящем документе.

Трансгенных мышей, которые могут продуцировать набор человеческих антител, связывающихся с человеческими антигенами, можно создавать известными способами (например, без ограничений, описанными в патентах США №: 5,770,428, 5,569,825, 5,545,806, 5,625,126, 5,625,825, 5,633,425, 5,661,016 и 5,789,650, выданных Lonberg et al.; выданных Jakobovits et al. WO 98/50433, Jakobovits et al. WO 98/24893, Lonberg et al. WO 98/24884, Lonberg et al. WO 97/13852, Lonberg et al. WO 94/25585, Kucherlapate et al. WO 96/34096, Kucherlapate et al. EP 0463 151 B1, Kucherlapate et al. EP 0710 719 A1, Surani et al. патент США № 5,545,807, Bruggemann et al. WO 90/04036, Bruggemann et al. EP 0438 474 B1, Lonberg et al. EP 0814 259 A2, Lonberg et al. GB 2 272

440 A, в Lonberg *et al.* *Nature* 368:856–859 (1994), Taylor *et al.*, *Int. Immunol.* 6(4): 579–591 (1994), Green *et al.*, *Nature Genetics* 7:13–21 (1994), Mendez *et al.*, *Nature Genetics* 15:146–156 (1997), Taylor *et al.*, *Nucleic Acids Research* 20(23):6287–6295 (1992), Tuailon *et al.*, *Proc Natl Acad Sci USA* 90(8):3720–3724 (1993), Lonberg *et al.*, *Int Rev Immunol* 13(1):65–93 (1995) и Fishwald *et al.*, *Nat Biotechnol* 14(7):845–851 (1996), причем все полностью включены в настоящий документ путем ссылки). По существу эти мыши имеют по меньшей мере одну содержащую трансген ДНК из по меньшей мере одного локуса человеческого иммуноглобулина, который функционально перестроен или который можно подвергать функциональной перестройке. Эндогенный локус иммуноглобулина у таких мышей можно разрушать или делетировать, чтобы лишить животное способности продуцировать антитела, кодируемые эндогенными генами.

Скрининг антител на специфичность связывания со сходными белками или фрагментами удобно проводить с использованием библиотек пептидного дисплея. Данный способ включает скрининг больших наборов пептидов для выявления отдельных пептидов, имеющих требуемую функцию или структуру. Скрининг антител в библиотеках пептидного дисплея хорошо известен специалистам в данной области. Длина отображаемых пептидных последовательностей может составлять от 3 до 5000 или более аминокислот, зачастую длина составляет 5–100 аминокислот и часто длина составляет от около 8 до 25 аминокислот. В дополнение к способам получения пептидных библиотек прямым химическим синтезом было описано несколько способов с рекомбинантными ДНК. Один из таких способов предусматривает отображение пептидной последовательности на поверхности бактериофага или клетки. Каждый бактериофаг или клетка содержит нуклеотидную последовательность, кодирующую конкретную отображаемую пептидную последовательность. Такие способы описаны в патентных публикациях РСТ № 91/17271, 91/18980, 91/19818 и 93/08278.

Другие системы для создания пептидных библиотек имеют аспекты как способов химического синтеза *in vitro*, так и рекомбинантных способов. См. патентные публикации РСТ № 92/05258, 92/14843 и 96/19256. См. также патенты США № 5,658,754; и 5,643,768. В продаже имеются библиотеки пептидных дисплеев, векторы и наборы для скрининга таких производителей, как Invitrogen (Carlsbad, штат Калифорния, США) и Cambridge antibody Technologies (Cambridgeshire, Великобритания). См., например, патенты США № 4704692, 4939666, 4946778, 5260203, 5455030, 5518889, 5534621, 5656730, 5763733, 5767260, 5856456, выданные Enzon; 5223409, 5403484, 5571698, 5837500, выданные Duax, 5427908, 5580717,

выданные Affymax; 5885793, выданный Cambridge antibody Technologies; 5750373, выданный Genentech, 5618920, 5595898, 5576195, 5698435, 5693493, 5698417, выданные Хоме, Colligan, упомянутое; Ausubel, выше; или Sambrook, выше, каждый из указанных патентов и публикаций полностью включен в настоящий документ путем ссылки.

5 Антитела, применяемые в способе настоящего изобретения, также можно получать с использованием по меньшей мере одной нуклеиновой кислоты, кодирующей антитело к ИЛ-23, для создания трансгенных животных или млекопитающих, таких как козы, коровы, лошади, овцы, кролики и т. п., которые продуцируют такие антитела в своем молоке. Таких животных можно создавать с помощью известных способов. См., например, без ограничений, патенты США № 5,827,690; 5,849,992; 4,873,316; 5,849,992; 5,994,616; 5,565,362; 5,304,489 и т. п., причем каждый из них полностью включен в настоящий документ путем ссылки.

10 Антитела, применяемые в способе настоящего изобретения, дополнительно можно получать с использованием по меньшей мере одной нуклеиновой кислоты, кодирующей антитело к ИЛ-23, для создания трансгенных растений и культур клеток растений (например, без ограничения, табака и маиса), которые продуцируют такие антитела, их определенные участки или варианты в органах растений или полученных из них клеточных культурах. В качестве не имеющего ограничительного характера примера трансгенные листья табака, экспрессирующие рекомбинантные белки, успешно использовали для получения больших количеств рекомбинантных белков, например, с использованием индуцируемого промотора. См., например, Cramer et al., Curr. Top. Microbiol. Immunol. 240:95-118 (1999) и приведенные в этой публикации ссылки. Кроме того, трансгенный маис использовали для экспрессии белков млекопитающих на уровне промышленного производства, причем их биологическая активность была эквивалентна активности белков, которые продуцировали в других системах рекомбинации или очищали из природных источников. См., например, Hood et al., Adv. Порядок Med. Biol. 464: 127-147 (1999) и приведенные в этой публикации ссылки. Антитела, включая и фрагменты антител, такие как одноцепочечные антитела (scFv), также продуцировали в больших количествах из семян трансгенных растений, в том числе из семян табака и клубней картофеля. См., например, Conrad et al., Plant Mol. Biol. 38: 101-109 (1998) и приведенные в этой публикации ссылки. Таким образом, антитела настоящего изобретения можно также продуцировать с использованием трансгенных растений в соответствии с известными способами. См. также, например, Fischer et al., Biotechnol. Appl. Biochem. 30:99-108 (Oct., 1999), Ma et al., Trends

Biotechnol. 13:522-7 (1995); Ma et al., Plant Physiol. 109:341-6 (1995); Whitlam et al., Biochem. Soc. Trans. 22:940-944 (1994); и приведенные в этих публикациях ссылки. Каждый из вышеуказанных источников полностью включен в настоящий документ путем ссылки.

5 Антитела, применяемые в способе настоящего изобретения, могут связываться с человеческим ИЛ-23 в широком интервале аффинности (K_D). В предпочтительном варианте осуществления мАт человека необязательно может связываться с человеческим ИЛ-23 с высокой аффинностью. Например, мАт человека может связываться с человеческим ИЛ-23 с показателем K_D , равным или меньшим около 10^7
10 M , например, без ограничений, $0,1-9,9$ (или в любом диапазоне, или с любым значением в пределах данного диапазона) $\times 10^{-7}$, 10^{-8} , 10^{-9} , 10^{-10} , 10^{-11} , 10^{-12} , 10^{-13} , или в любом интервале, или с любым значением в нем.

Аффинность или авидность антитела для антигена можно определять экспериментально любым приемлемым способом (см., например, Berzofsky, *et al.*,
15 Antibody-Antigen Interactions, *Fundamental Immunology*, Paul, W. E., Ed., Raven Press: New York, NY (1984); Kuby, Janis *Immunology*, W. H. Freeman and Company: New York, NY (1992); а также способами, описанными в настоящем документе). Измеренная аффинность конкретного взаимодействия антитело-антиген может изменяться в зависимости от измерения в разных условиях (например, концентрации солей, pH).
20 Таким образом, измерения аффинности и других параметров связывания антигена (например, K_D , K_a , K_d) предпочтительно выполнять в стандартизованных растворах антитела и антигена и в стандартизованном буфере, таком как буфер, описанный в настоящем документе.

Молекулы нуклеиновых кислот

25 Используя приведенную в настоящем документе информацию, например нуклеотидные последовательности, кодирующие по меньшей мере 70–100% последовательных аминокислот по меньшей мере одной из переменных областей или CDR-областей легкой или тяжелой цепи, описанных в настоящем документе, наряду с другими последовательностями, описанными в настоящем документе, их определенных
30 фрагментов, вариантов или консенсусные последовательности, или депонированный вектор, содержащий по меньшей мере одну из этих последовательностей, молекулу нуклеиновой кислоты настоящего изобретения, кодирующую по меньшей мере одно антитело к ИЛ-23, можно получать способами, описанными в настоящем документе или известными специалистам в данной области.

Молекулы нуклеиновых кислот настоящего изобретения могут иметь форму РНК, такой как мРНК, гяРНК, тРНК или любой другой формы, или форму ДНК, включая, без ограничений, кДНК и геномную ДНК, полученные путем клонирования, путем синтеза или любых их комбинаций. ДНК может быть трехцепочечной, 5 двухцепочечной, одноцепочечной или комбинированной. Любая часть по меньшей мере одной цепи ДНК или РНК может быть кодирующей цепью, также известной как прямая цепь, или некодирующей цепью, также называемой обратной цепью.

Выделенные молекулы нуклеиновых кислот, применяемые в способе настоящего изобретения, могут включать молекулы нуклеиновых кислот, содержащие 10 открытую рамку считывания (ORF), необязательно с одним или более интронов, например, без ограничений, для по меньшей мере одного определенного участка по меньшей мере одной CDR, такой как CDR1, CDR2 и/или CDR3 по меньшей мере одной тяжелой цепи или легкой цепи; молекулы нуклеиновых кислот, содержащие кодирующую последовательность для антитела к ИЛ-23 или вариабельной области; и 15 молекулы нуклеиновых кислот, которые содержат последовательность нуклеотидов, по существу отличающуюся от нуклеотидных последовательностей, описанных выше, но которая, тем не менее, вследствие вырожденности генетического кода кодирует по меньшей мере одно антитело к ИЛ-23, как описано в настоящем документе и/или известно специалистам в данной области. Разумеется, генетический код хорошо 20 известен специалистам в данной области. Следовательно, для специалиста будет стандартной процедурой создание подобных вырожденных вариантов нуклеиновых кислот, кодирующих специфичные антитела к ИЛ-23, применяемые в способе настоящего изобретения. См., например, Ausubel, et al., выше, и такие варианты нуклеиновых кислот включены в настоящее изобретение. Не имеющие 25 ограничительного характера примеры выделенных молекул нуклеиновых кислот включают нуклеиновые кислоты, кодирующие соответственно HC CDR1, HC CDR2, HC CDR3, LC CDR1, LC CDR2 и LC CDR3.

Как указано в настоящем документе, молекулы нуклеиновых кислот, которые содержат нуклеиновую кислоту, кодирующую антитело к ИЛ-23, могут включать без 30 ограничений молекулу, отдельно кодирующую аминокислотную последовательность фрагмента антитела; кодирующую последовательность для полноразмерного антитела или его участка; кодирующую последовательность для антитела, фрагмента или участка, а также дополнительные последовательности, такие как кодирующая последовательность по меньшей мере для одного сигнального лидерного или слитого

пептида при наличии или в отсутствие вышеуказанных дополнительных кодирующих последовательностей, таких как по меньшей мере один интрон, вместе с дополнительными некодирующими последовательностями, включающими без ограничений некодирующие 5' - и 3' -последовательности, такие как транскрибируемые нетранслируемые последовательности, которые участвуют в транскрипции, процессинге мРНК, включая сигналы сплайсинга и полиаденилирования (например, связывание рибосом и стабильность мРНК); дополнительную кодирующую последовательность, которая кодирует дополнительные аминокислоты, такие как аминокислоты, которые обеспечивают дополнительную функциональность. Таким образом, кодирующая антитело последовательность может быть слита с маркерной последовательностью, такой как последовательность, кодирующая пептид, что облегчает очистку слитого антитела, содержащего фрагмент или участок антитела.

Селективная гибридизация полинуклеотидов с описанным в настоящем документе полинуклеотидом

В способе настоящего изобретения применяют выделенные нуклеиновые кислоты, которые в условиях селективной гибридизации образуют гибридный полинуклеотид, описанный в настоящем документе. Таким образом, полинуклеотиды настоящего варианта осуществления можно применять для выделения, обнаружения и/или количественного определения нуклеиновых кислот, содержащих такие полинуклеотиды. Например, полинуклеотиды настоящего изобретения можно использовать для идентификации, выделения или амплификации частичных или полноразмерных клонов в депонированной библиотеке. В некоторых вариантах осуществления полинуклеотиды представляют собой последовательности геномной ДНК или кДНК, выделенные или иным образом комплементарные к кДНК из библиотеки нуклеиновых кислот человека или млекопитающего.

Библиотека кДНК предпочтительно содержит по меньшей мере 80% полноразмерных последовательностей, более предпочтительно по меньшей мере 85% или 90% полноразмерных последовательностей и наиболее предпочтительно по меньшей мере 95% полноразмерных последовательностей. Библиотеки кДНК можно нормализовать для увеличения представительства редких последовательностей. Для последовательностей с низкой или умеренной идентичностью относительно комплементарных последовательностей гибридизацию обычно, но не исключительно осуществляют в условиях низкой или умеренной жесткости. Для последовательностей с большей идентичностью необязательно применяют условия средней и высокой

жесткости. Условия низкой жесткости допускают селективную гибридизацию последовательностей с уровнем идентичности около 70%, и их можно применять для идентификации ортологических или паралогических последовательностей.

5 Не обязательно полинуклеотиды будут кодировать по меньшей мере участок антитела. Полинуклеотиды охватывают последовательности нуклеотидов, которые можно использовать для селективной гибридизации с полинуклеотидом, кодирующим антитело настоящего изобретения. См., например, Ausubel, выше; Colligan, выше, каждая публикация полностью включена в настоящий документ путем ссылки.

Конструирование нуклеиновых кислот

10 Как хорошо известно специалистам в данной области, выделенные нуклеиновые кислоты можно получать с помощью (a) способов рекомбинации, (b) способов синтеза, (c) способов очистки и/или (d) их сочетаний.

Нуклеиновые кислоты могут для удобства содержать последовательности, дополнительные к полинуклеотиду настоящего изобретения. Например, в нуклеиновую кислоту можно встраивать сайт множественного клонирования, содержащий один или более сайтов эндонуклеазной рестрикции, чтобы облегчить выделение полинуклеотида. Кроме того, можно встраивать транслируемые последовательности, чтобы облегчить выделение транслированного полинуклеотида настоящего изобретения. К примеру, удобным средством очистки белков настоящего изобретения служит введение последовательности маркера гексагистидина. Нуклеиновая кислота по настоящему изобретению, за исключением кодирующей последовательности, может необязательно представлять собой вектор, адаптер или линкер для клонирования и/или экспрессии полинуклеотида настоящего изобретения.

20 В такие клонирующие и/или экспрессионные последовательности можно добавлять дополнительные последовательности, чтобы оптимизировать их функцию при клонировании и/или экспрессии, способствовать выделению полинуклеотида или улучшать введение полинуклеотида в клетку. Использование векторов клонирования, экспрессионных векторов, адаптеров и линкеров хорошо известно специалистам в данной области (см., например, Ausubel выше; или Sambrook, выше).

Рекомбинантные способы конструирования нуклеиновых кислот

30 Композиции выделенных нуклеиновых кислот, таких как РНК, кДНК, геномная ДНК или любая их комбинация, можно получать из биологических источников с помощью любого числа способов клонирования, известных специалистам в данной области. В некоторых вариантах осуществления для идентификации желательной

последовательности в библиотеке кДНК или геномной ДНК используют олигонуклеотидные зонды, которые селективно гибридизуются в жестких условиях с полинуклеотидами настоящего изобретения. Выделение РНК и конструирование библиотек кДНК и геномных библиотек хорошо известно специалистам в данной области. (см., например, Ausubel выше; или Sambrook, выше).

Способы скрининга и выделения нуклеиновых кислот

Скрининг библиотеки кДНК или геномной ДНК можно проводить с помощью зонда на основе последовательности полинуклеотида, применяемого в способе настоящего изобретения, такого как описанные в настоящем документе. Зонды можно использовать для гибридизации с последовательностями геномной ДНК или кДНК, чтобы выделять гомологичные гены в тех же самых или разных организмах. Специалистам в данной области должно быть понятно, что для анализа можно использовать различные степени жесткости гибридизации; и что жесткой может быть либо гибридизация, либо среда для отмывки. По мере того как условия гибридизации становятся более жесткими, требуемая для образования дуплекса степень комплементарности между зондом и мишенью возрастает. Жесткость условий можно контролировать одним или более из следующих параметров: температура, ионная сила, рН и присутствие частично денатурирующего растворителя, такого как формамид. Например, жесткость условий гибридизации обычно изменяют путем смены полярности раствора реагентов, например посредством изменения концентрации формамида в интервале от 0 до 50%. Степень комплементарности (идентичности последовательностей), необходимая для детектируемого связывания, варьирует в соответствии с жесткостью среды для гибридизации и/или среды для отмывки. Оптимальная степень комплементарности составляет 100%, или 70–100%, или любой интервал, или значение в нем. Однако следует понимать, что небольшие вариации последовательностей в зондах и праймерах возможно компенсировать путем уменьшения строгости среды гибридизации и/или среды для промывания.

Способы амплификации РНК или ДНК хорошо известны специалистам в данной области и могут применяться в соответствии с настоящим изобретением без лишних экспериментов на основании представленных в настоящем документе инструкций и рекомендаций.

Известные способы амплификации ДНК или РНК включают, без ограничений, полимеразную цепную реакцию (ПЦР) и связанные с ней процессы амплификации (см., например, патенты США №№ 4,683,195, 4,683,202, 4,800,159, 4,965,188, выданные

Mullis, et al.; 4,795,699 и 4,921,794, выданные Tabor, et al; 5,142,033, выданный Innis; 5,122,464, выданный Wilson, et al.; 5,091,310, выданный Innis; 5,066,584, выданный Gyllensten, et al; 4,889,818, выданный Gelfand, et al; 4,994,370, выданный Silver, et al; 4,766,067, выданный Biswas; 4,656,134, выданный Ringold), и опосредованную РНК амплификацию, в которой используют в качестве матрицы для синтеза двухцепочечной ДНК обратную РНК к последовательности-мишени (патент США № 5,130,238, выданный Malek, et al, с торговым названием NASBA), полное содержание всех этих ссылок включено в настоящий документ путем ссылки. (см., например, Ausubel выше; или Sambrook, выше).

Например, технологию полимеразной цепной реакции (ПЦР) можно использовать для амплификации последовательностей полинуклеотидов, применяемых в способе по настоящему изобретению, и связанных с ними генов прямо из библиотек геномной ДНК или кДНК. ПЦР и другие способы амплификации *in vitro* можно также использовать, например, для клонирования последовательностей нуклеотидов, кодирующих белки, которые требуется экспрессировать, чтобы применять зонды нуклеиновых кислот для обнаружения наличия желательной мРНК в пробах, секвенирования нуклеиновых кислот или иных целей. Примеры способов, достаточные для определения специалистам в данной области способов амплификации *in vitro*, можно найти в Berger, выше, Sambrook, выше, и Ausubel, выше, а также в Mullis, et al., патенте США № 4,683,202 (1987); и Innis, et al., PCR Protocols: a Guide to Methods and Applications, Eds., Academic Press Inc., San Diego, CA (1990). Имеющиеся в продаже наборы для амплификации геномной последовательности ПЦР известны специалистам в данной области. См., например, набор Advantage-GC Genomic PCR Kit (Clontech). Кроме того, возможно использование, например, белка 32 гена Т4 (Boehringer Mannheim) для увеличения выхода реакции при ПЦР длинных фрагментов.

Синтетические способы конструирования нуклеиновых кислот

Выделенные нуклеиновые кислоты, применяемые в способе по настоящему изобретению, также можно получать прямым химическим синтезом с помощью известных способов (см., например, Ausubel, et al., выше). Химическим синтезом по существу получают одноцепочечный олигонуклеотид, который можно преобразовать в двухцепочечную ДНК путем гибридизации с комплементарной последовательностью либо полимеризации с ДНК-полимеразой и одиночной цепью в качестве матрицы. Специалистам в данной области известно, что химический синтез ДНК может ограничиваться последовательностями длиной в 100 или более оснований, однако

можно лигировать короткие последовательности, получая более длинные последовательности.

Кассеты рекомбинантной экспрессии

В настоящем изобретении применяются кассеты рекомбинантной экспрессии, содержащие нуклеиновую кислоту. Последовательность нуклеотидов, например последовательность кДНК или геномную последовательность, кодирующую антитело для применения в способе настоящему изобретению, можно использовать для конструирования кассеты рекомбинантной экспрессии, которую можно вводить по меньшей мере в одну желаемую клетку-хозяина. Кассета рекомбинантной экспрессии, как правило, содержит полинуклеотид, функционально связанный с регуляторными последовательностями инициации транскрипции, которые направляют трансляцию полинуклеотида в предназначенной для нее клетке-хозяине. Для направления экспрессии нуклеиновых кислот могут применяться как гетерологичные, так и негетерологичные (т. е. эндогенные) промоторы.

В некоторых вариантах осуществления выделенные нуклеиновые кислоты, которые служат в качестве промотора, энхансера или других элементов, можно встраивать в соответствующее положение (выше, ниже или в интроне) негетерологичной формы полинуклеотида по настоящему изобретению таким образом, чтобы стимулировать или подавлять экспрессию полинуклеотида. Например, эндогенные промоторы можно изменять *in vivo* или *in vitro* путем мутации, делеции и/или замены.

Векторы и клетки-хозяева

Настоящее изобретение также относится к векторам, которые включают в себя выделенные молекулы нуклеиновых кислот, клеткам-хозяевам, которые получены способами генной инженерии с рекомбинантными векторами, и к получению по меньшей мере одного антитела к ИЛ-23 с помощью рекомбинантных способов, которые хорошо известны в данной области. См., например, Sambrook et al., упомянутое; Ausubel, et al., упомянутое; причем каждая публикация полностью включена в настоящий документ путем ссылки.

Полинуклеотиды можно необязательно соединять с вектором, содержащим селективный маркер для размножения в организме-хозяине. По существу плазмидный вектор вводят в осадок, такой как осадок фосфата кальция, или в комплекс с заряженным липидом. Если в качестве вектора используют вирус, его можно

упаковывать *in vitro* с помощью приемлемой упаковочной клеточной линии и впоследствии вводить внутрь клеток-хозяев.

Вставку ДНК необходимо функционально связывать с пригодным промотором.

Экспрессионные конструкторы дополнительно содержат сайты для инициации и
5 терминации транскрипции, а в транскрибируемой области — сайт связывания
рибосомы для трансляции. Кодировующий участок зрелых транскриптов с экспрессией
конструкторами предпочтительно содержит иницирующий трансляцию в начале и
терминирующий кодон (например, UAA, UGA или UAG), надлежащим образом
расположенный в конце транслируемой мРНК, причем для экспрессии клеток
10 млекопитающих или эукариот предпочтительны UAA и UAG.

Экспрессионные векторы предпочтительно, но необязательно включают по
меньшей мере один селективный маркер. Такие маркеры включают, например, без
ограничений, гены устойчивости к метотрексату (MTX), дигидрофолатредуктазе
(DHFR, патенты США № 4,399,216; 4,634,665; 4,656,134; 4,956,288; 5,149,636;
15 5,179,017, ампициллину, неомицину (G418), микофеноловой кислоте или
глутаминсинтетазе (GS) (патенты США № 5,122,464; 5,770,359; 5,827,739) для
культуры эукариотических клеток и гены устойчивости к тетрациклину или
ампициллину для культивирования в *E. coli* и других бактериях или прокариотах
(вышеуказанные патенты полностью включены в настоящий документ путем ссылки).
20 Пригодные культуральные среды и условия для вышеуказанных клеток-хозяев
известны в данной области. Приемлемые векторы, разумеется, известны специалистам
в данной области. Введение векторного конструктора в клетку-хозяина можно
осуществлять путем трансфекции посредством фосфата кальция, DEAE-декстрана,
катионных липидов, электропорации, трансдукции, инфекции или других известных
25 способов. Такие способы описаны в данной области, например, в Sambrook,
упомянутое, главы 1–4 и 16–18; Ausubel, упомянутое, главы 1, 9, 13, 15, 16.

По меньшей мере одно антитело, применяемое в способе настоящего
изобретения, можно экспрессировать в модифицированной форме, такой как
гибридный белок, и оно может включать не только сигналы секреции, но также и
30 дополнительные гетерологичные функциональные области. Например, к N-концу
антитела можно добавлять область дополнительных аминокислот, особенно
заряженные аминокислоты, для повышения стабильности и персистенции антитела в
клетке-хозяине, а также в ходе очистки или в ходе последующих манипуляций и
хранения. Кроме того, к антителу настоящего изобретения для упрощения очистки

можно добавлять пептидные звенья. Такие области можно удалять перед получением антитела или по меньшей мере одного его фрагмента. Такие способы описаны в многочисленных стандартных лабораторных руководствах, например, Sambrook, упомянутое, главы 17.29–17.42 и 18.1–18.74; Ausubel, упомянутое, главы 16, 17 и 18.

5 Специалисты в данной области знают множество экспрессирующих систем, доступных для экспрессии нуклеиновой кислоты, кодирующей белок, применяемый в способе настоящего изобретения. В альтернативном варианте осуществления нуклеиновые кислоты можно экспрессировать в клетке-хозяине путем запуска (путем процедуры) в клетке-хозяине, которая содержит эндогенную ДНК, кодирующую антитело. Такие способы хорошо известны специалистам в данной области, например, 10 описаны в патентах США № 5,580,734, 5,641,670, 5,733,746 и 5,733,761, полностью включенных в настоящий документ путем ссылки.

 Примером клеточных культур, используемых для получения антител, их определенных участков или вариантов, являются клетки млекопитающих. Системы 15 клеток млекопитающих часто используют в виде монослоев клеток, однако можно также использовать суспензии клеток млекопитающих или биореакторы. В данной области разработано несколько приемлемых линий клеток-хозяев, способных экспрессировать интактные гликозилированные белки, в частности линии клеток COS-1 (например, ATCC CRL 1650), COS-7 (например, ATCC CRL-1651), HEK293, ВНК21 20 (например, ATCC CRL-10), CHO (например, ATCC CRL 1610) и BSC-1 (например, ATCC CRL-26), клетки Cos-7, клетки CHO, клетки her G2, клетки P3X63Ag8.653, SP2/0-Ag14, 293, клетки HeLa и т. п., например, производства Американской коллекции типовых культур, г. Манассас, штат Вирджиния, США (www.atcc.org).

 Предпочтительные клетки-хозяева включают клетки лимфоидного происхождения, 25 такие как миеломные и лимфомные клетки. Более предпочтительны клетки-хозяева P3X63Ag8.653 (каталожный номер ATCC CRL-1580) и клетки SP2/0-Ag14 (каталожный номер ATCC CRL-1851). В особенно предпочтительном варианте осуществления рекомбинантная клетка представляет собой клетку линий P3X63Ab8.653 или SP2/0-Ag14.

30 Экспрессионные векторы для этих клеток могут включать одну или более из следующих последовательностей для контроля экспрессии, таких как, без ограничений, точка начала репликации; промотор (например, поздние или ранние промоторы SV40, промотор CMV (патенты США № 5,168,062; 5,385,839), промотор HSV tk, промотор pgk (фосфоглицераткиназа), промотор EF-1-альфа (патент США № 5,266,491), по

меньшей мере один промотор человеческого иммуноглобулина; энхансер и/или информационные сайты для процессинга, такие как сайты связывания рибосом, сайты сплайсинга РНК, сайты полиаденилирования (например, сайт присоединения поли-А большого Т-Ag SV40) и последовательности терминаторов транскрипции. См.,
5 например, Ausubel et al., упомянутое; Sambrook et al., упомянутое. Для продукции нуклеиновых кислот или белков настоящего изобретения используют и другие известные и/или поставляемые клетки, например, по каталогу «Американская коллекция типовых культур клеточных линий и гибридом» (www.atcc.org), либо из других известных или коммерческих источников.

10 В случае использования эукариотических клеток-хозяев в вектор, как правило, встраивают последовательности полиаденилирования или терминации транскрипции. Например, в качестве последовательности терминации можно использовать последовательность полиаденилирования из гена бычьего гормона роста. Возможно также добавление последовательностей для точного сплайсинга транскрипта.

15 Примером последовательности сплайсинга служит интрон VP1 из SV40 (Sprague, et al., J. Virol. 45:773-781 (1983)). Кроме того, в вектор можно добавлять последовательности генов для контроля репликации в клетке-хозяине, известные в данной области.

Очистка антитела

20 Антитело к ИЛ-23 может быть восстановлено и очищено из рекомбинантных клеточных культур хорошо известными способами, включающими, помимо прочего: очистку на белке А, осаждение сульфатом аммония или спиртом, экстрагирование кислотой, анионо- или катионообменную хроматографию, хроматографию на фосфоцеллюлозе, гидрофобную хроматографию, аффинную хроматографию, хроматографию на гидроксилapatите и хроматографию на лектине. Для очистки можно
25 также использовать высокоэффективную жидкостную хроматографию (ВЭЖХ). См., например, Colligan, Current Protocols in Immunology, или Current Protocols in Protein Science, John Wiley & Sons, NY, NY, (1997–2001), например, главы 1, 4, 6, 8, 9, 10, причем каждая полностью включена в настоящий документ путем ссылки.

30 Антитела, применяемые в способе настоящего изобретения, включают очищенные естественным путем продукты, продукты химического синтеза и продукты, получаемые при помощи рекомбинантных технологий из эукариотических клеток-хозяев, включая, например, клетки дрожжей, высших растений, насекомых и млекопитающих. В зависимости от хозяина, используемого в способе рекомбинантной продукции, антитело может быть гликозилированным или может быть

негликозилированным, причем гликозилированное антитело является предпочтительным. Такие способы описаны в многочисленных стандартных лабораторных руководствах, например Sambrook, упомянутое, разделы 17.37–17.42; Ausubel, упомянутое, главы 10, 12, 13, 16, 18 и 20, Colligan, Protein Science, упомянутое, главы 12–14, причем все публикации полностью включены в настоящий документ путем ссылки.

Антитела к ИЛ-23.

Антитело к ИЛ-23 настоящего изобретения включает любой белок или пептид, содержащий молекулу, которая содержит по меньшей мере участок молекулы иммуноглобулина, такую как, без ограничений, по меньшей мере один связывающий лиганд участок (LBP), такой как, без ограничений, определяющая комплементарность область (CDR) тяжелой или легкой цепи, или ее связывающий лиганд участок, переменная область тяжелой или легкой цепи, каркасная область (например, FR1, FR2, FR3, FR4 или их фрагмент, дополнительно необязательно содержащие по меньшей мере одну замену, вставку или делецию), константная область тяжелой или легкой цепи (например, содержащая по меньшей мере один C_H1, шарнирную область 1, шарнирную область 2, шарнирную область 3, шарнирную область 4, C_H2 или C_H3, или их фрагмент, дополнительно необязательно содержащие по меньшей мере одну замену, вставку или делецию), или любой их участок, который можно встроить в антитело.

Антитело может включать антитела любого млекопитающего, такого как, без ограничений, человек, мышь, кролик, крыса, грызун, примат, или любую их комбинацию и т. п. или может быть получено из них.

Выделенные антитела, применяемые в способе по настоящему изобретению, содержат последовательности аминокислот антител, описанных в настоящем документе, кодируемые любым приемлемым полинуклеотидом, или любое выделенное или полученное антитело. Предпочтительно человеческое антитело или связывающий антиген фрагмент связывается с человеческим ИЛ-23 и, таким образом, частично или по существу нейтрализует по меньшей мере один вид биологической активности этого белка. Антитело, или его определенный участок или вариант, которые частично или предпочтительно по существу нейтрализуют по меньшей мере один вид биологической активности по меньшей мере одного белка или фрагмента ИЛ-23, может связывать белок или фрагмент и, таким образом, ингибировать активности, опосредованные связыванием ИЛ-23 с рецептором к ИЛ-23 или с другими зависимыми от ИЛ-23 или опосредованные им механизмами. В контексте настоящего документа термин

«нейтрализующее антитело» относится к антителу, которое может ингибировать зависимость от ИЛ-23 активность на около 20–120%, предпочтительно по меньшей мере на около 10, 20, 30, 40, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 100% или более в зависимости от способа анализа. Способность антитела к ИЛ-23 ингибировать зависимость от ИЛ-23 активность предпочтительно оценивают с помощью по меньшей мере одного приемлемого способа анализа белка ИЛ-23 или его рецептора, как описано в настоящем документе и/или как известно специалистам в данной области. Человеческое антитело может представлять собой антитело любого класса (IgG, IgA, IgM, IgE, IgD и т. п.) или изотипа и может содержать легкую цепь каппа или лямбда. В одном варианте осуществления человеческое антитело содержит тяжелую цепь или определенный фрагмент IgG, например, по меньшей мере одного из изотипов IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4 (например, $\gamma 1$, $\gamma 2$, $\gamma 3$, $\gamma 4$). Антитела этого типа можно получать с использованием трансгенной мыши или другого трансгенного не относящегося к человеку млекопитающего, содержащего трансгены по меньшей мере одной человеческой легкой цепи (например, IgG, IgA и IgM), как описано в настоящем документе и/или как известно специалистам в данной области. В другом варианте осуществления человеческое антитело к ИЛ-23 содержит тяжелую цепь IgG1 и легкую цепь IgG1.

Антитело связывает по меньшей мере один определенный эпитоп, специфичный к по меньшей мере одному белку ИЛ-23, его субъединице, фрагменту, участку или любой их комбинации. По меньшей мере один эпитоп может содержать по меньшей мере одну область связывания с антителом, которая содержит по меньшей мере один участок белка, причем данный эпитоп предпочтительно содержит по меньшей мере один внеклеточный, растворимый, гидрофильный, внешний или цитоплазматический участок белка.

По существу человеческое антитело или антигенсвязывающий фрагмент содержит антигенсвязывающую область, которая содержит по меньшей мере одну определяющую комплементарность область (CDR1, CDR2 и CDR3) человека или вариант по меньшей мере одной варибельной области тяжелой цепи и по меньшей мере одной определяющей комплементарность области человека (CDR1, CDR2 и CDR3) или вариант по меньшей мере одной варибельной области легкой цепи. Последовательности CDR можно получать из последовательностей зародышевой линии человека, или они могут обладать близким сходством с последовательностями зародышевой линии. Например, можно использовать CDR из синтетической

библиотеки, полученной из исходных не относящихся к человеку CDR. Эти CDR можно образовывать из исходной не относящейся к человеку последовательности путем встраивания консервативных замен. В другом конкретном варианте осуществления антитело или антигенсвязывающий участок или вариант может иметь 5 антигенсвязывающую область, которая содержит по меньшей мере участок по меньшей мере одной CDR легкой цепи (т. е. CDR1, CDR2 и/или CDR3), имеющую аминокислотную последовательность, соответствующую CDR 1, 2 и/или 3.

Такие антитела можно получать путем химического связывания различных участков (например, CDR, каркасной области) антитела с помощью стандартных 10 способов получения и экспрессии молекулы (т. е. одной или более) нуклеиновой кислоты, которая кодирует антитело, с помощью стандартных способов технологии рекомбинантных ДНК или с помощью другого приемлемого способа.

Специфичное антитело к ИЛ-23 может содержать по меньшей мере одну из 15 переменных областей тяжелой или легкой цепи, имеющую определенную аминокислотную последовательность. Например, в предпочтительном варианте осуществления изобретения антитело к ИЛ-23 содержит по меньшей мере одну переменную область тяжелой цепи, необязательно имеющую последовательность аминокислот SEQ ID NO: 7, и/или по меньшей мере одну переменную область легкой цепи, необязательно имеющую последовательность аминокислот SEQ ID NO: 8. В 20 дополнительном предпочтительном варианте осуществления антитела к ИЛ-23 содержит по меньшей мере одну тяжелую цепь, необязательно имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 9, и/или по меньшей мере одну легкую цепь, необязательно имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 10. Антитела, которые связываются с человеческим ИЛ-23 и которые содержат 25 определенную переменную область тяжелой или легкой цепи, можно получать приемлемыми способами, такими как способ фагового дисплея (Katsube, Y., *et al.*, *Int J Mol. Med.*, 1(5):863–868 (1998)), или способами, в которых используют трансгенных животных, известных специалистам в данной области и/или описанных в настоящем документе. Например, трансгенную мышь, содержащую функционально 30 перестроенный трансген тяжелой цепи человеческого иммуноглобулина и трансген, содержащий ДНК локуса легкой цепи человеческого иммуноглобулина, который может подвергаться функциональной перестройке, можно иммунизировать человеческим ИЛ-23 или его фрагментом, чтобы вызывать продукцию антител. Если требуется, можно выделять клетки, продуцирующие антитела, и можно получать гибридомы или другие

иммортиализованные клетки, продуцирующие антитела, как описано в настоящем документе и/или известно специалистам в данной области. В альтернативном варианте осуществления антитело, определенный участок или вариант можно экспрессировать в приемлемой клетке-хозяине с помощью кодирующей нуклеиновой кислоты или ее участка.

Изобретение также относится к антителам, антигенсвязывающим фрагментам, цепям иммуноглобулина и областям CDR, содержащим аминокислоты в последовательности, по существу совпадающей с аминокислотной последовательностью антитела, описанной в настоящем документе. Предпочтительно такие антитела или связывающие антиген фрагменты и антитела, содержащие такие цепи или области CDR, могут связываться с человеческим ИЛ-23 с высокой аффинностью (например, с K_D менее или равной около 10^{-9} М). Аминокислотные последовательности, по существу совпадающие с последовательностями, описанными в настоящем документе, включают последовательности, содержащие консервативные аминокислотные замены, а также делеции и/или вставки аминокислот. Консервативной аминокислотной заменой называется замена первой аминокислоты на вторую аминокислоту, физические и/или химические свойства которой (например, заряд, структура, полярность, гидрофобность/гидрофильность) сходны со свойствами первой аминокислоты. Консервативные замены включают, без ограничений, замену одной аминокислоты на другую в пределах следующих групп: лизин (K), аргинин (R) и гистидин (H); аспартат (D) и глутамат (E); аспарагин (N), глутамин (Q), серин (S), треонин (T), тирозин (Y), K, R, H, D и E; аланин (A), валин (V), лейцин (L), изолейцин (I), пролин (P), фенилаланин (F), триптофан (W), метионин (M), цистеин (C) и глицин (G); F, W и Y; C, S и T.

Коды аминокислот

Аминокислоты, составляющие антитела к ИЛ-23 настоящего изобретения, часто обозначают аббревиатурами. Наименования аминокислот можно обозначать с помощью однобуквенного кода аминокислоты, трехбуквенного кода, названия или кодона (-ов) из трех нуклеотидов, что хорошо известно специалистам в данной области (см. Alberts, B., et al., *Molecular Biology of The Cell*, Third Ed., Garland Publishing, Inc., New York, 1994).

ОДНОБУКВЕН- НЫЙ КОД	ТРЕХБУКВЕН- НЫЙ КОД	НАЗВАНИЕ	КОДОН (-Ы) ИЗ ТРЕХ НУКЛЕОТИДОВ
A	Ala	Аланин	GCA, GCC, GCG, GCU
C	Cys	Цистеин	UGC, UGU

ОДНОБУКВЕН- НЫЙ КОД	ТРЕХБУКВЕН- НЫЙ КОД	НАЗВАНИЕ	КОДОН (-Ы) ИЗ ТРЕХ НУКЛЕОТИДОВ
D	Asp	Аспарагиновая кислота	GAC, GAU
E	Glu	Глутаминовая кислота	GAA, GAG
F	Phe	Фенилаланин	UUC, UUU
G	Gly	Глицин	GGA, GGC, GGG, GGU
H	His	Гистидин	CAC, CAU
I	Ile	Изолейцин	AUA, AUC, AUU
K	Lys	Лизин	AAA, AAG
L	Leu	Лейцин	UUA, UUG, CUA, CUC, CUG, CUU
M	Met	Метионин	AUG
N	Asn	Аспарагин	AAC, AAU
P	Pro	Пролин	CCA, CCC, CCG, CCU
Q	Gln	Глутамин	CAA, CAG
R	Arg	Аргинин	AGA, AGG, CGA, CGC, CGG, CGU
S	Ser	Серин	AGC, AGU, UCA, UCC, UCG, UCU
T	Thr	Треонин	ACA, ACC, ACG, ACU
V	Val	Валин	GUA, GUC, GUG, GUU
W	Trp	Триптофан	UGG
DA	Tyr	Тирозин	UAC, UAU

Антитело к ИЛ-23, применяемое в способе настоящего изобретения, может включать одну или более замен, делеций или добавлений аминокислот вследствие естественных мутаций либо действий человека, описанных в настоящем документе.

5 Число аминокислотных замен, которое может произвести квалифицированный специалист, зависит от многих факторов, включая описанные выше. Вообще говоря, число замен, вставок или делеций аминокислот любого данного антитела к ИЛ-23, фрагмента или варианта будет составлять не более 40, 30, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2, 1, например 1–30, или любой интервал, или значение в
10 нем, как указано в настоящем документе.

15 Специалисты в данной области могут идентифицировать аминокислоты в специфичном антителе к ИЛ-23, которые необходимы для его функции, известными способами, такими как сайт-направленный мутагенез или сканирующий аланином мутагенез (например, Ausubel, см. выше, главы 8, 15; Cunningham and Wells, Science 244:1081–1085 (1989)). Последняя процедура предполагает добавление точечных мутаций аланина в каждом остатке в молекуле. Затем полученные мутантные молекулы испытывают на биологическую активность, такую как, без ограничения, по меньшей мере одна активность по нейтрализации ИЛ-23. Критичные для связывания с антителом сайты можно также идентифицировать путем анализа структуры, например путем

кристаллизации, ядерного магнитного резонанса или фотоаффинного мечения (Smith, et al., J. Mol. Biol. 224:899–904 (1992) и de Vos, et al., Science 255:306–312 (1992)).

Антитела к ИЛ-23 могут включать без ограничений по меньшей мере один участок, последовательность или комбинацию, выбранные из от 5 до всех

5 последовательных аминокислот из по меньшей мере одной из последовательностей SEQ ID NO: 1, 2, 3, 4, 5 и 6.

Антитела к ИЛ-23 или определенные участки или варианты могут включать без ограничений по меньшей мере один участок, последовательность или комбинацию, выбранные из по меньшей мере 3–5 последовательных аминокислот указанных выше SEQ ID NO; 5–17 последовательных аминокислот указанных выше SEQ ID NO., 5–10 последовательных аминокислот указанных выше SEQ ID NO., 5–11 последовательных аминокислот указанных выше SEQ ID NO., 5–7 последовательных аминокислот указанных выше SEQ ID NO; 5–9 последовательно расположенных аминокислот указанных выше SEQ ID NO.

15 Антитело к ИЛ-23 может дополнительно необязательно содержать полипептид из по меньшей мере одной из 70–100% из числа 5, 17, 10, 11, 7, 9, 119 или 108 последовательных аминокислот с указанными выше SEQ ID NO. В одном варианте осуществления аминокислотная последовательность цепи иммуноглобулина или ее участок (например, вариабельная область, CDR) имеет идентичность около 70–100% (например, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 20 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 100 или любой интервал, или значение в нем) с аминокислотной последовательностью соответствующей цепи по меньшей мере одной из последовательностей SEQ ID NO, указанных выше. Например, аминокислотную последовательность вариабельной области легкой цепи можно сравнивать с последовательностью с указанными выше SEQ ID NO., или аминокислотную последовательность CDR3 тяжелой цепи можно сравнивать с указанными выше SEQ ID NO. 70–100% идентичности аминокислот (например, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 100 или любой интервал, или значение в нем) предпочтительно определяют с помощью приемлемого компьютерного алгоритма, известного специалистам в данной области.

30 «Идентичностью», как известно специалистам в данной области, называется соотношение между двумя или более полипептидными последовательностями или двумя или более полинуклеотидными последовательностями, определяемое путем сравнения этих последовательностей. В данной области «идентичность» также означает степень родства последовательностей между полипептидными или

полинуклеотидными последовательностями, как определено по сопоставлению цепочек таких последовательностей. «Идентичность» и «подобие» можно легко подсчитать известными способами, включая, без ограничений, описанные в *Computational Molecular Biology*, Lesk, A. M., ed., Oxford University Press, New York, 1988;

5 *Biocomputing: Informatics and Genome Projects*, Smith, D. W., ed., Academic Press, New York, 1993; *Computer Analysis of Sequence Data, Part I*, Griffin, A. M., and Griffin, H. G., eds., Humana Press, New Jersey, 1994; *Sequence Analysis in Molecular Biology*, von Heinje, G., Academic Press, 1987; и *Sequence Analysis Primer*, Gribskov, M. and Devereux, J., eds., M Stockton Press, New York, 1991; и Carillo, H., and Lipman, D., *Siam J. Applied Math.*, 10 48:1073 (1988). Кроме того, выраженную в процентах идентичность можно получать на основании сопоставлений последовательностей аминокислот и нуклеотидов, сгенерированных с заданными по умолчанию настройками компонента AlignX в пакете программ Vector NTI Suite 8.0 (Informax, г. Фредерик, штат Мэриленд, США).

Предпочтительные способы определения идентичности предназначены для
15 создания наилучшего соответствия между тестируемыми последовательностями. Способы определения идентичности и подобия систематизированы в общедоступных компьютерных программах. Предпочтительные компьютерные программные способы определения идентичности и подобия между двумя последовательностями включают, без ограничений, пакет программ GCG (Devereux, J., et al., *Nucleic Acids Research* 12(1): 20 387 (1984)), BLASTP, BLASTN и FASTA (Atschul, S. F. et al., *J. Molec. Biol.* 215:403-410 (1990)). Программа BLAST X общедоступна от NCBI и других источников (BLAST Manual, Altschul, S., et al., NCBINLM NIH Bethesda, Md. 20894; Altschul, S., et al., *J. Mol. Biol.* 215:403-410 (1990)). Для определения идентичности также можно использовать хорошо известный алгоритм Smith Waterman.

25 Предпочтительные параметры сравнения полипептидных последовательностей включают следующие:

(1) Алгоритм: Needleman and Wunsch, *J. Mol Biol.* 48:443–453 (1970). Матрица сравнения: BLOSSUM62 из Hentikoff and Hentikoff, *Proc. Natl. Acad. Sci., USA.* 89:10915-10919 (1992).

30 Штраф за гэн: 12

Штраф за длину гэпа: 4

Программа, используемая с данными параметрами, находится в общем доступе как программа «гэпа» от Genetics Computer Group, Мэдисон, штат Висконсин, США.

Указанные выше параметры являются параметрами по умолчанию для сравнений пептидных последовательностей (с отсутствием штрафа за концевые гэпы).

Предпочтительные параметры для сравнения полинуклеотидов включают следующие:

5 (1) Алгоритм: Needleman and Wunsch, J. Mol Biol. 48:443-453 (1970).

Матрица сравнения: совпадения= + 10, несовпадение = 0

Штраф за гэп: 50

Штраф за длину гэпа: 3

10 Доступно как: программа «гэпа» от Genetics Computer Group, Мэдисон, штат Висконсин, США. Указанные параметры являются параметрами по умолчанию для сравнений последовательностей нуклеотидов.

В качестве примера, полинуклеотидная последовательность может быть идентичной другой последовательности, то есть на 100% идентичной, или может включать до определенного целого числа изменений нуклеотидов по сравнению с эталонной последовательностью. Такие изменения выбирают из группы, состоящей из делеции, замены, включая транзицию и трансверсию, или вставки по меньшей мере одного нуклеотида, и при этом изменения могут иметь место в 5'- или 3'-концевых положениях эталонной последовательности нуклеотидов, или где-нибудь между этими концевыми положениями, и могут быть либо рассеянными поодиночке среди нуклеотидов в эталонной последовательности, либо быть собранными в одну или более последовательных групп в пределах эталонной последовательности. Число изменений нуклеотидов определяют умножением общего числа нуклеотидов в последовательности на число, определяющее соответственный процент идентичности (поделенный на 100), а затем вычитают этот результат из общего числа нуклеотидов в последовательности, или:

25 $n.\text{sub}.n.\text{ltorsim}.x.\text{sub}.n - (x.\text{sub}.n.y),$

где $n.\text{sub}.n$ — число изменений нуклеотидов, $x.\text{sub}.n$ — общее число нуклеотидов в последовательности, и y равен, например, 0,70 для 70%, 0,80 для 80%, 0,85 для 85%, 0,90 для 90%, 0,95 для 95% и т. п., и при этом любой нецелый результат умножения $x.\text{sub}.n$ на y округляют с уменьшением до ближайшего целого числа, прежде чем вычесть его из $x.\text{sub}.n$.

Изменения полинуклеотидной последовательности, кодирующей SEQ ID NO выше, могут создавать нонсенс-, миссенс-мутации или мутации сдвига рамки считывания в данной кодирующей последовательности и тем самым изменять

полипептид, кодируемый полинуклеотидом, после таких изменений. Аналогичным образом, полипептидная последовательность может быть идентична приведенной выше эталонной последовательности SEQ ID NO выше, т. е. на 100% идентичной, или может включать в себя до определенного целого числа изменений аминокислот по сравнению с эталонной последовательностью таким образом, что процент идентичности составляет менее 100%. Такие изменения выбраны из группы, состоящей из делеции, замены, включая консервативную и неконсервативную замену, или вставки по меньшей мере одной аминокислоты, и при этом изменения могут иметь место в положениях на аминном или карбоксильном конце эталонной полипептидной последовательности, или где-нибудь между этими концевыми положениями, и могут быть либо рассеянными поодиночке среди аминокислот в эталонной последовательности, либо быть собранными в одну или более последовательных групп в пределах эталонной последовательности. Число замен аминокислот для данного % идентичности определяют умножением общего числа аминокислот в SEQ ID NO выше на численный процент соответствующей процентной идентичности (поделенный на 100), а затем вычитают это произведение из общего числа аминокислот в SEQ ID NO выше, или:

$$n.\text{sub.a.} - \text{torsi} \cdot x.\text{sub.a.} - (x.\text{sub.a.} \cdot y),$$

где $n.\text{sub.a.}$ представляет собой число изменений аминокислот, $x.\text{sub.a.}$ представляет собой общее число аминокислот в SEQ ID NO, указанных выше, а y составляет, например, 0,70 для 70%, 0,80 для 80%, 0,85 для 85% и т. д., и при этом любое нецелое число получения $x.\text{sub.a.}$ и y округляют с уменьшением до ближайшего целого числа, прежде чем вычесть его из $x.\text{sub.a.}$

Примеры последовательностей переменных областей тяжелой и легкой цепей и их участков представлены в вышеуказанных SEQ ID NO. Антитела настоящего изобретения или их определенные варианты могут содержать любое число остатков смежных аминокислот из антитела настоящего изобретения, причем это число выбрано из группы целых чисел в интервале 10–100% от числа последовательных остатков в антителе КИЛ-23. Длина данной подпоследовательности последовательных аминокислот необязательно составляет по меньшей мере около 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 110, 120, 130, 140, 150, 160, 170, 180, 190, 200, 210, 220, 230, 240, 250 или более аминокислот, или любой интервал, или значение в нем. Количество таких подпоследовательностей может дополнительно представлять собой любое целое число, выбранное из группы, состоящей из 1–20, например по меньшей мере 2, 3, 4 или 5.

Согласно определению специалистов в данной области, настоящее изобретение включает по меньшей мере одно биологически активное антитело настоящего изобретения. Биологически активные антитела обладают удельной активностью, составляющей по меньшей мере 20%, 30% или 40%, и предпочтительно по меньшей мере 50%, 60% или 70%, и наиболее предпочтительно по меньшей мере 80%, 90% или 95–100% или более (включая, без ограничений, вплоть до 10-кратного увеличения удельной активности) от активности нативного (несинтетического), эндогенного или родственного ему и известного антитела. Способы качественного и количественного анализа ферментативной активности и субстратной специфичности хорошо известны специалистам в данной области.

В другом аспекте изобретение относится к человеческим антителам и антигенсвязывающим фрагментам, как описано в настоящем документе, которые модифицируют путем ковалентного присоединения органической функциональной группы. Такая модификация позволяет создавать антитело или антигенсвязывающий фрагмент с улучшенными фармакокинетическими свойствами (например, увеличенным периодом полужизни *in vivo* в сыворотке). В качестве органической функциональной группы можно использовать линейную или разветвленную гидрофильную полимерную группу, группу жирной кислоты или группу сложного эфира жирной кислоты. В конкретных вариантах осуществления гидрофильная полимерная группа может иметь молекулярную массу от около 800 до около 120 000 дальтон и представлять собой полиалкангликоль (например, полиэтиленгликоль (PEG), полипропиленгликоль (PPG)), углеводный полимер, аминокислотный полимер или поливинилпиролон, а группа жирной кислоты или группа сложного эфира жирной кислоты может содержать от около восьми до около сорока атомов углерода.

Модифицированные антитела и антигенсвязывающие фрагменты могут содержать одну или более органических звеньев, которые имеют прямую или непрямую ковалентную связь с антителом. Каждая органическая функциональная группа, связанная с антителом или с антигенсвязывающим фрагментом изобретения, может независимо представлять собой гидрофильную полимерную группу, группу жирной кислоты или группу сложного эфира жирной кислоты. В контексте настоящего документа термин «жирная кислота» охватывает одноосновные и двухосновные карбоновые кислоты. В контексте настоящего документа термин «гидрофильная полимерная группа» обозначает органический полимер, обладающий лучшей растворимостью в воде, чем в октане. Например, полилизин лучше растворяется в воде,

чем в октане. Таким образом, антитело, модифицированное путем ковалентного присоединения полилизина, включено в изобретение. Гидрофильные полимеры, приемлемые для модификации антител изобретения, могут быть линейными или разветвленными, и включают, например, полиалкангликоли (например, PEG, 5 монометоксиполиэтиленгликоль (mPEG), PPG и т. п.), углеводы (например, декстран, целлюлозу, олигосахариды, полисахариды и т. п.), полимеры гидрофильных аминокислот (например, полилизин, полиаргинин, полиаспартат и т. п.), оксиды полиалканов (например, полиэтиленоксид, полипропиленоксид и т. п.) и поливинилпирролидон. Гидрофильный полимер, модифицирующий антитело 10 изобретения, предпочтительно имеет молекулярную массу от около 800 до около 150 000 дальтон, как отдельный фрагмент молекулы. Например, PEG₅₀₀₀ и PEG_{20,000}, где нижний индекс означает среднюю молекулярную массу полимера в дальтонах. Гидрофильная полимерная группа может иметь от одного до около шести заместителей — групп алкила, жирной кислоты или сложного эфира жирной кислоты. 15 Гидрофильные полимеры с замещающей группой жирной кислоты или сложного эфира жирной кислоты можно получать с применением приемлемых способов. Например, полимер, содержащий аминогруппу, может быть связан с карбоксилатом жирной кислоты или сложного эфира жирной кислоты, а активированный карбоксилат (например, активированный N,N-карбонилдиимидазолом) на жирной кислоте или 20 сложном эфире жирной кислоты может быть связан с гидроксильной группой полимера.

Жирные кислоты и сложные эфиры жирных кислот, приемлемые для модификации антител изобретения, могут быть насыщенными или могут содержать одну или более ненасыщенных связей. Жирные кислоты, приемлемые для 25 модификации антител по настоящему изобретению, включают, например, н-додеканоат (C₁₂, лаурат), н-тетрадеканоат (C₁₄, мирилат), н-октадеканоат (C₁₈, стеарат), н-эйкозаноат (C₂₀, арахидат), н-докозаноат (C₂₂, бегенат), н-триаконтаноат (C₃₀), н-тетрааконтаноат (C₄₀), *цис*- Δ^9 -октадеканоат (C₁₈, олеат), полностью *цис*- $\Delta^{5,8,11,14}$ -эйкозатетраеноат (C₂₀, арахидонат), октандикарбоновую кислоту, 30 тетрадекандикарбоновую кислоту, октадекандикарбоновую кислоту, докозандикарбоновую кислоту и т. п. Приемлемые сложные эфиры жирных кислот включают сложные моноэфиры дикарбоновых кислот, содержащие линейную или разветвленную группу низшего алкила. Группа низшего алкила может содержать от

одного до около двенадцати, предпочтительно от одного до около шести атомов углерода.

Модифицированные человеческие антитела и антигенсвязывающие фрагменты можно получать с помощью приемлемого способа, например путем реакции с одним или более модифицирующими агентами. В контексте настоящего документа термин «модифицирующий агент» относится к приемлемой органической группе (например, гидрофильному полимеру, жирной кислоте, сложному эфиру жирной кислоты), которая содержит активирующую группу. «Активирующая группа» означает химический фрагмент или функциональную группу, которые при подходящих условиях могут вступать в реакцию со второй химической группой и, таким образом, образовывать ковалентную связь между модифицирующим агентом и второй химической группой. Например, к реагирующим с амином активирующим группам относятся электрофильные группы, такие как тозилат, мезилат, галоген (хлор, бром, фтор, йод), сложные эфиры N-гидроксисукцинимидила (NHS) и т. п. Активирующие группы, способные реагировать с тиолами, включают, например, малеимид, йодацетил, акрилолил, дисульфиды пиридила, тиол 5-тиол-2-нитробензойной кислоты (TNB-тиол) и т. п. Функциональная группа альдегида может быть связана с амин- или гидразид-содержащими молекулами, а группа азида может реагировать с трехвалентной фосфорной группой с образованием фосфорамидатных или фосфоримидных связей. Приемлемые способы введения активирующих групп в молекулы известны специалистам в данной области (см., например, Hermanson, G. T., *Bioconjugate Techniques*, Academic Press: San Diego, CA (1996)). Активирующая группа может быть связана с органической группой (например, гидрофильным полимером, жирной кислотой, эфиром жирной кислоты) прямо или через линкерное звено, например двухвалентную группу C₁–C₁₂, в которой один или более атомов углерода могут замещаться гетероатомом, таким как кислород, азот или сера. Приемлемые линкерные звенья включают, например, тетраэтиленгликоль, $-(CH_2)_3-$, $-NH-(CH_2)_6-NH-$, $-(CH_2)_2-NH-$ и $-CH_2-O-CH_2-CH_2-O-CH_2-CH_2-O-CH-NH-$. Модифицирующие агенты, которые содержат линкерную функциональную группу, можно получать, например, путем реакции моно-Вос-алкилдиамина (например, моно-Вос-этилендиамина, моно-Вос-диаминогексана) с жирной кислотой в присутствии 1-этил-3-(3-диметиламинопропил)-карбодиимида (EDC) с образованием амидной связи между свободным амином и карбоксилатом жирной кислоты. Защитную группу Вос можно удалять из продукта путем обработки трифторуксусной кислотой (TFA) с открытием

первичного амина, который может быть связан с другим карбоксилатом, как описано выше, или он может вступать в реакцию с малеиновым ангидридом с замыканием полученного продукта в цикл и получением активированного малеимидного производного жирной кислоты (См., например, Thompson, *et al.*, WO 92/16221, содержание полностью включено в настоящий документ путем ссылки).

Модифицированные антитела можно получать путем реакции человеческого антитела или антигенсвязывающего фрагмента с модифицирующим агентом.

Например, органические функциональные группы могут быть связаны с антителом неспецифично к сайту с помощью реагирующего с амином модифицирующего агента, например сложного эфира NHS и PEG. Модифицированные человеческие антитела или антигенсвязывающие фрагменты можно также получать путем восстановления дисульфидных связей (например, внутривещечных дисульфидных связей) антитела или антигенсвязывающего фрагмента. Восстановленное антитело или антигенсвязывающий фрагмент может впоследствии взаимодействовать с реагирующим с тиолом модифицирующим агентом с получением модифицированного антитела изобретения. Модифицированные человеческие антитела и антигенсвязывающие фрагменты, содержащие органическую функциональную группу, которая связано с определенными участками антитела настоящего изобретения, можно получать с помощью приемлемых способов, таких как обратный протеолиз (Fisch *et al.*, *Bioconjugate Chem.*, 3: 147–153 (1992); Werlen *et al.*, *Bioconjugate Chem.*, 5: 411–417 (1994); Kumaran *et al.*, *Protein Sci.* 6(10):2233-2241 (1997); Itoh *et al.*, *Bioorg. Chem.*, 24(1): 59-68 (1996); Capellas *et al.*, *Biotechnol. Bioeng.*, 56(4):456-463 (1997)), а также способов, описанных в Hermanson, G. T., *Bioconjugate Techniques*, Academic Press: San Diego, CA (1996).

В способе настоящего изобретения также применяют композицию антител к ИЛ-23, содержащую по меньшей мере одно, по меньшей мере два, по меньшей мере три, по меньшей мере четыре, по меньшей мере пять, по меньшей мере шесть или более антител к ИЛ-23, как описано в настоящем документе и/или известно специалистам в данной области, представленных в виде не встречающейся в природе композиции, смеси или формы. Такие композиции представляют собой не встречающиеся в природе композиции, содержащие по меньшей мере одну или две аминокислотные последовательности полноразмерных антител к ИЛ-23, вариантов с делецией на С- и/или N-конце, доменов, фрагментов или специфических вариантов, выбранные из группы, состоящей из последовательностей, на 70–100% идентичных

последовательностям смежных аминокислот указанных выше SEQ ID NO или специфических фрагментов, доменов или их вариантов. Предпочтительные композиции антитела к ИЛ-23 включают по меньшей мере одну или две последовательности полноразмерных антител к ИЛ-23, фрагментов, доменов или вариантов с по меньшей мере одной CDR- или LBP-областью, например, последовательности, на 70–100% идентичные последовательностям указанных выше SEQ ID NO или фрагментов, доменов или их вариантов. Предпочтительные композиции дополнительно содержат, например, 40–99% по меньшей мере одной из 70–100% последовательностей с указанными выше SEQ ID NO и т. д. или их определенных фрагментов, доменов или вариантов. Процентные доли такой композиции определяют по массе, объему, концентрации, молярности или моляльности в жидких или сухих растворах, смесях, суспензиях, эмульсиях, частицах, порошке или коллоидах, как известно специалистам в данной области или описано в настоящем документе.

Композиции антител, содержащие дополнительные терапевтически активные вещества

Композиции антител, применяемые в способе настоящего изобретения, необязательно могут дополнительно содержать эффективное количество по меньшей мере одного соединения или белка, выбранного из по меньшей мере одного лекарственного средства (ЛС) против инфекции, ЛС для сердечно-сосудистой системы (ССС), ЛС для центральной нервной системы (ЦНС), ЛС для автономной нервной системы (АНС), ЛС для дыхательного тракта, ЛС для желудочно-кишечного тракта (ЖКТ), гормонального ЛС, ЛС для баланса жидкости или электролитов, гематологического ЛС, противоопухолевого ЛС, иммуномодулирующего ЛС, ЛС для глаз, ушей или носа, ЛС для местного применения, питательного ЛС и т. п. Такие лекарственные средства хорошо известны специалистам в данной области, включая составы, показания, дозы и введение для каждого представленного в настоящем описании ЛС (см., например, Nursing 2001 Handbook of Drugs, 21st edition, Springhouse Corp., Springhouse, PA, 2001; Health Professional's Drug Guide 2001, ed., Shannon, Wilson, Stang, Prentice-Hall, Inc, Upper Saddle River, NJ; Pharmacotherapy Handbook, Wells et al., ed., Appleton & Lange, Stamford, CT, причем каждая из публикаций полностью включена в настоящий документ путем ссылки).

Примером лекарственных средств, которые можно комбинировать с антителами для способа настоящего изобретения, является противомикробное лекарственное средство, которое может представлять собой по меньшей мере одно средство,

выбранное из амебицидов, или по меньшей мере одного из противопротозойных, противогельминтных, противогрибковых, противомаларийных, противотуберкулезных средств, или по меньшей мере одного из противолепрозных средств, аминогликозидов, пенициллинов, цефалоспоринов, тетрациклинов, сульфонамидов, фторхинолонов, 5 противовирусных, макролидных противоинфекционных средств и прочих противоинфекционных средств. Гормональное ЛС может представлять собой по меньшей мере одно средство, выбранное из кортикостероидов, андрогенов, или по меньшей мере одного из анаболических стероидов, эстрогенов, или по меньшей мере одно из прогестина, гонадотропина, антидиабетического ЛС, или по меньшей мере одно 10 из глюкагона, тиреоидного гормона, антагониста тиреоидного гормона, гормона гипофиза и подобного паратгормону ЛС. По меньшей мере один цефалоспорин может представлять собой по меньшей мере один, выбранный из цефаклора, цефадроксила, цефазолина натрия, цефдинира, гидрохлорида цефепима, цефиксима, цефметазола натрия, цефоницида натрия, цефоперазона натрия, цефотаксима натрия, цефотетана 15 динатрия, цефокситина натрия, цефподоксима проксетила, цефпрозила, цефтазидима, цефтибутена, цефтизоксима натрия, цефтриаксона натрия, цефуроксима аксетила, цефуроксима натрия, гидрохлорида цефалексина, моногидрата цефалексина, цефрадина и лоракарбефа.

По меньшей мере один кортикостероид может представлять собой по меньшей 20 мере один, выбранный из бетаметазона, ацетата бетаметазона или фосфата бетаметазона натрия, фосфата бетаметазона натрия, кортизона ацетата, дексаметазона, ацетата дексаметазона, фосфата дексаметазона натрия, ацетата флудрокортизона, гидрокортизона, ацетата гидрокортизона, ципионата гидрокортизона, фосфата гидрокортизона натрия, сукцината гидрокортизона натрия, метилпреднизолона, ацетата 25 метилпреднизолона, сукцината метилпреднизолона натрия, преднизолона, ацетата преднизолона, преднизолона фосфата натрия, тебутата преднизолона, преднизона, триамцинолона, ацетонида триамцинолона и диацетата триамцинолона. По меньшей мере один андроген или анаболический стероид может представлять собой по меньшей мере один, выбранный из даназола, флюоксиместерона, метилтестостерона, деканоата 30 нандролона, фенпропионата нандролона, тестостерона, ципионата тестостерона, энантата тестостерона, пропионата тестостерона и тестостерона в трансдермальной системе.

По меньшей мере один иммунодепрессант может представлять собой по меньшей мере один, выбранный из азатиоприна, базиликсимаба, циклоспорина,

даклизумаба, иммуноглобулина лимфоцитов, муромонаба CD3, микофенолята мофетила, микофенолята мофетила гидрохлорида, сиролимуса и такролимуса.

По меньшей мере одно противoinфекционное лекарственное средство местного действия может представлять собой по меньшей мере одно средство, выбранное из

5 ацикловира, амфотерицина В, крема с азелаиновой кислотой, бацитрацина, бутконазола нитрата, фосфата клиндамицина, клотримазола, нитрата эконазола, эритромицина, сульфата гентамицина, кетоконазола, ацетата мафенида, метронидазола (местного действия), нитрата миконазола, мупироцина, гидрохлорида нафтифина, сульфата неомицина, нитрофуразона, нистатина, сульфадиазина серебра, гидрохлорида

10 тербинафина, терконазола, гидрохлорида тетрациклина, тиокконазола и толнафтата. По меньшей мере одно лекарственное средство против чесотки или педикулицид может представлять собой по меньшей мере одно средство, выбранное из кротамитона, линдана, перметрина и пиретринов. По меньшей мере один кортикостероид для местного применения может представлять собой по меньшей мере один, выбранный из

15 дипропионата бетаметазона, валерата бетаметазона, пропионата клобетазола, дезонида, дезоксиметазона, дексаметазона, фосфата дексаметазона натрия, диацетата дифлоразона, ацетонида флуоцинолона, флуоцинонида, флурандренолида, флутиказона пропионата, галционида, гидрокортизона, ацетата гидрокортизона, бутирата гидрокортизона, валерата гидрокортизона, фууроата мометазона и ацетонида

20 триамцинолона (См., например, стр. 1098–1136 в *Nursing 2001 Drug Handbook*.)

Композиции антител к ИЛ-23 могут дополнительно содержать по меньшей мере одно из любых приемлемых и эффективных количеств композиции или фармацевтической композиции, содержащей по меньшей мере одно антитело к ИЛ-23, которое приводят в контакт или вводят в клетку, ткань, орган, животному или

25 пациенту, нуждающемуся в таком модулировании, лечении или терапии, дополнительно необязательно содержащей по меньшей мере одно средство, выбранное из по меньшей мере одного антагониста ФНО (например, без ограничений, химического или белкового антагониста ФНО, моноклонального или поликлонального антитела к ФНО или фрагмента, растворимого рецептора ФНО (например, р55, р70 или

30 р85) или фрагмента, их слитых полипептидов или низкомолекулярного антагониста ФНО, например, связывающего ФНО белка I или II (ТВР-1 или ТВР-II), нерелимонмаба, инфликсимаба, этернацепта, CDP-571, CDP-870, афелимомаба, ленерцепта и т. п.), противоревматического ЛС (например, метотрексата, ауранофина, аурутиоглюкозы, азатиоприна, этанерцепта, золота-натрия тиомалата,

5 гидроксихлорохина сульфата, лефлуномида, сульфасалзина), иммунизации, иммуноглобулина, иммунодепрессанта (например, базиликсимаба, циклоспорина, даклизумаба), цитокина или антагониста цитокина. Не имеющие ограничительного характера примеры таких цитокинов включают, без ограничений, любой из от ИЛ-1 до 10 ИЛ-40 и др. (например, ИЛ-1, ИЛ-2 и т. д.). Приемлемые дозировки хорошо известны специалистам в данной области. См., например, Wells et al., eds., *Pharmacotherapy Handbook*, 2nd Edition, Appleton and Lange, Stamford, CT (2000); PDR *Pharmacopoeia*, Tarascon Pocket *Pharmacopoeia* 2000, Deluxe Edition, Tarascon Publishing, Loma Linda, CA (2000), причем каждая из публикаций полностью включена в настоящий документ путем ссылки.

Соединения, композиции или комбинации антител к ИЛ-23, применяемые в способе настоящего изобретения, могут дополнительно содержать по меньшей мере одно из любых приемлемых вспомогательных веществ, таких как, без ограничений, разбавитель, связующее вещество, стабилизатор, буферы, соли, липофильные 15 растворители, консервант, адъювант и т. п. Предпочтительными являются фармацевтически приемлемые вспомогательные вещества. Не имеющие ограничительного характера примеры таких стерильных растворов и способы их получения хорошо известны специалистам в данной области, например, без 20 ограничений, описаны в Gennaro, Ed., *Remington's Pharmaceutical Sciences*, 18th Edition, Mack Publishing Co. (Easton, PA) 1990. Фармацевтически приемлемые носители могут быть выбраны обычным способом, исходя из приемлемости для пути введения, растворимости и/или стабильности композиции, содержащей антитело к ИЛ-23, фрагмент или вариант, как хорошо известно специалистам в данной области или описано в настоящем документе.

25 Фармацевтические эксципиенты и добавки, используемые в настоящей композиции, включают, без ограничений, белки, пептиды, аминокислоты, липиды и углеводы (например, сахара, включая моносахариды, ди-, три-, тетра- и олигосахариды; производные сахаров, такие как альдиты, альдоновые кислоты, этерифицированные сахара и т. п.; и полисахариды или полимеры сахаров), которые могут присутствовать 30 отдельно или в комбинации, составляя отдельно или в комбинации 1–99,99% по массе или по объему. Примеры белковых эксципиентов включают сывороточный альбумин, такой как человеческий сывороточный альбумин (HSA), рекомбинантный человеческий альбумин (гНА), желатин, казеин и т. п. Типичные компоненты аминокислот/антител, которые могут также выполнять буферную функцию, включают аланин, глицин,

аргинин, бетаин, гистидин, глутаминовую кислоту, аспарагиновую кислоту, цистеин, лизин, лейцин, изолейцин, валин, метионин, фенилаланин, аспартам и т. п. Одной предпочтительной аминокислотой является глицин.

Углеводные эксципиенты, приемлемые для применения в изобретении, включают, например, моносахариды, такие как фруктоза, мальтоза, галактоза, глюкоза, D-манноза, сорбоза и т. п.; дисахариды, такие как лактоза, сахароза, трегалоза, целлобиоза и т. п.; полисахариды, такие как рафиноза, мелицитоза, мальтодекстрины, декстраны, крахмалы и т. п.; и альдиты, такие как маннит, ксилит, мальтит, лактит, ксилит, сорбит (глюцит), миоинозит и т. п. Предпочтительными углеводными эксципиентами для применения в настоящем изобретении являются маннит, трегалоза и рафиноза.

Композиции антител к ИЛ-23 могут также включать в себя буфер или агент, регулирующий pH; как правило, буфер представляет собой соль, полученную из органической кислоты или основания. Репрезентативные буферы включают соли органических кислот, такие как соли лимонной кислоты, аскорбиновой кислоты, глюконовой кислоты, угольной кислоты, винной кислоты, янтарной кислоты, уксусной кислоты или фталевой кислоты; буферы Трис, гидрохлорида трометамин или фосфата. Предпочтительными буферами для применения в настоящих композициях являются соли органических кислот, такие как цитрат.

Композиции антител к ИЛ-23 могут дополнительно включать в себя полимерные эксципиенты/добавки, такие как поливинилпирролидоны, фикоиллы (полимерный сахар), декстраты (например, циклодекстрины, такие как 2-гидроксипропил- β -циклодекстрин), полиэтиленгликоли, ароматизаторы, противомикробные агенты, подсластители, антиоксиданты, антистатические агенты, поверхностно-активные вещества (например, полисорбаты, такие как ТВИН-20 и ТВИН-80), липиды (например, фосфолипиды, жирные кислоты), стероиды (например, холестерин) и хелатирующие агенты (например, ЭДТА).

Эти и дополнительные известные фармацевтические эксципиенты и/или добавки, приемлемые для применения в композициях антител к ИЛ-23, их участков или вариантов в соответствии с настоящим изобретением, известны специалистам в данной области, например, перечислены в Remington: The Science & Practice of Pharmacy, 19th ed., Williams & Williams, (1995) и в Physician's Desk Reference, 52nd ed., Medical Economics, Montvale, NJ (1998), содержание которых полностью включено в настоящий документ путем ссылки. Предпочтительными материалами-носителями или

эксципиентами являются углеводы (например, сахараиды и альдиты) и буферы (например, цитрат) или полимерные агенты. Примером молекулы-носителя является мукополисахарид, гиалуроновая кислота, которую можно использовать для внутрисуставного введения.

5 Составы

Как указано выше, в настоящем изобретении предложены стабильные составы, которые предпочтительно содержат фосфатный буфер с физиологическим раствором или выбранной солью, а также консервированные растворы и составы, содержащие консервант, а также консервированные составы для многократного применения, пригодные для фармацевтического или ветеринарного применения, содержащие по меньшей мере одно антитело к ИЛ-23 в фармацевтически приемлемом составе. Консервированные составы содержат по меньшей мере один консервант, известный или необязательно выбранный из группы, состоящей из по меньшей мере одного фенола, м-крезола, п-крезола, о-крезола, хлоркрезола, бензилового спирта, нитрита фенилртути, феноксиэтанола, формальдегида, хлорбутанола, хлорида магния (например, гексагидрата), алкилпарабена (метил-, этил-, пропил-, бутил- и т. п.), хлорида бензалкония, хлорида бензэтония, дегидроацетата натрия и тимеросала или их смесей в водном разбавителе. Как известно специалистам в данной области, можно использовать любую приемлемую концентрацию или смесь, такую как 0,001–5%, или любой интервал, или значение в нем, например, без ограничений, 0,001, 0,003, 0,005, 0,009, 0,01, 0,02, 0,03, 0,05, 0,09, 0,1, 0,2, 0,3, 0,4, 0,5, 0,6, 0,7, 0,8, 0,9, 1,0, 1,1, 1,2, 1,3, 1,4, 1,5, 1,6, 1,7, 1,8, 1,9, 2,0, 2,1, 2,2, 2,3, 2,4, 2,5, 2,6, 2,7, 2,8, 2,9, 3,0, 3,1, 3,2, 3,3, 3,4, 3,5, 3,6, 3,7, 3,8, 3,9, 4,0, 4,3, 4,5, 4,6, 4,7, 4,8, 4,9, или любой интервал, или значение в нем. Не имеющие ограничительного характера примеры включают отсутствие консервантов, 0,1–2% м-крезола (например, 0,2, 0,3, 0,4, 0,5, 0,9, 1,0%), 0,1–3% бензилового спирта (например, 0,5, 0,9, 1,1, 1,5, 1,9, 2,0, 2,5%), 0,001–0,5% тимеросала (например, 0,005, 0,01%), 0,001–2,0% фенола (например, 0,05, 0,25, 0,28, 0,5, 0,9, 1,0%), 0,0005–1,0% алкилпарабена (-ов) (например, 0,00075, 0,0009, 0,001, 0,002, 0,005, 0,0075, 0,009, 0,01, 0,02, 0,05, 0,075, 0,09, 0,1, 0,2, 0,3, 0,5, 0,75, 0,9, 1,0%) и т. п.

30 Как отмечено выше, в способе изобретения применяют промышленное изделие, содержащее упаковочный материал и по меньшей мере один флакон, содержащий раствор по меньшей мере одного специфического антитела к ИЛ-23 с предписанными буферами и/или консервантами, необязательно в водном разбавителе, причем указанный упаковочный материал содержит этикетку с указанием, что такой раствор

можно хранить в течение периода 1, 2, 3, 4, 5, 6, 9, 12, 18, 20, 24, 30, 36, 40, 48, 54, 60, 66, 72 часов или дольше. В изобретении дополнительно применяют промышленное изделие, содержащее упаковочный материал, первый флакон, содержащий лиофилизированное специфичное к ИЛ-23 антитело, и второй флакон, содержащий водный разбавитель, состоящий из предписанного буфера или консерванта, причем указанный упаковочный материал содержит этикетку с инструкцией для пациента о том, как разводить специфичное к ИЛ-23 антитело в водном разбавителе с образованием раствора, который можно хранить в течение периода в двадцать четыре часа или дольше.

Антитело к ИЛ-23, применяемое в соответствии с настоящим изобретением, можно продуцировать рекомбинантными способами, в том числе из клетки млекопитающего или трансгенных препаратов, либо его можно очищать из других биологических источников, как описано в настоящем документе или как известно специалистам в данной области.

Диапазон количества антитела к ИЛ-23 включает количества, которые после разведения (при использовании влажной/сухой системы) достигают концентраций от около 1,0 мкг/мл до около 1000 мг/мл, хотя меньшие и большие концентрации приемлемы и зависят от предполагаемой несущей среды для введения, например, составы раствора различаются для способов с трансдермальным пластырем, введением через легкие, через слизистые оболочки, или осмотическим способом, или с помощью микродозатора.

Дополнительно водный разбавитель предпочтительно необязательно содержит фармацевтически приемлемый консервант. Предпочтительные консерванты включают выбранные из группы, состоящей из фенола, м-крезола, п-крезола, о-крезола, хлоркрезола, бензилового спирта, алкилпарабена (метил-, этил-, пропил-, бутил- и т. п.), хлорида бензалкония, хлорида бензэтония, дегидроацетата и тимеросала натрия или их смесей. Концентрации консерванта, применяемой в составе, должно быть достаточно для обеспечения противомикробного действия. Такие концентрации зависят от выбранного консерванта, и квалифицированный специалист в данной области без труда определяет ее.

Предпочтительно в разбавитель можно необязательно добавлять другие эксципиенты, например изотонические агенты, буферы, антиоксиданты и средства, усиливающие консервацию. Изотонические агенты, такие как глицерин, широко используют в известных концентрациях. Для улучшения контроля рН предпочтительно

добавляют физиологически приемлемый буфер. Составы могут охватывать широкий диапазон рН, такой как от около рН 4 до около рН 10, с предпочтительным интервалом от около рН 5 до около рН 9 и наиболее предпочтительно от около рН 6,0 до около рН 8,0. Составы настоящего изобретения предпочтительно имеют рН от около 6,8 до около 7,8. Предпочтительные буферы включают фосфатные буферы, наиболее предпочтительно фосфат натрия, в частности фосфатно-солевой буфер (PBS).

Для уменьшения агрегации в составы или композиции можно необязательно добавлять другие добавки, такие как фармацевтически приемлемые солюбилизаторы, например твин-20 (полиоксиэтилен (20) сорбитанмонолаурат), твин-40 (полиоксиэтилен (20) сорбитанмонопальмитат), твин-80 (полиоксиэтилен (20) сорбитанмоноолеат), Pluronic F68 (блок-сополимеры полиоксиэтилена и полиоксипропилена) и PEG (полиэтиленгликоль), или неионные поверхностно-активные вещества, такие как полисорбат 20 или 80, либо полксамер 184 или 188, полиолы Pluronic®, другие блок-сополимеры, и хелатирующие вещества, такие как ЭДТА и ЭГТА. Эти добавки, в частности, используют, если для введения состава применяют насос или пластиковый контейнер. Наличие фармацевтически приемлемого поверхностно-активного вещества снижает склонность белка к агрегации.

Составы можно получать способом, который включает смешивание по меньшей мере одного антитела к ИЛ-23 и консерванта, выбранного из группы, состоящей из фенола, м-крезола, п-крезола, о-крезола, хлоркрезола, бензилового спирта, алкилпарабена (метил-, этил-, пропил-, бутил- и т. п.), бензалкония хлорида, бензэтония хлорида, дегидроацетата натрия и тимеросала или их смесей в водном разбавителе. Смешивание по меньшей мере одного специфичного к ИЛ-23 антитела и консерванта в водном разбавителе осуществляют с помощью стандартных процедур растворения и смешивания. Например, для получения приемлемого состава соединяют отмеренное количество по меньшей мере одного специфичного антитела к ИЛ-23 в буферном растворе с необходимым консервантом в буферном растворе в количествах, достаточных для получения требуемых концентраций белка и консерванта. Варианты этого процесса понятны специалисту в данной области. Например, для оптимизации с учетом концентрации и применяемого способа введения можно изменять такие факторы, как порядок добавления компонентов, внесение дополнительных добавок, температура и рН, при которых получают состав.

Составы можно предоставлять пациентам в виде прозрачных растворов или двойных флаконов, включающих флакон с лиофилизированным специфическим

антителом к ИЛ-23, которое разводят содержащимися во втором флаконе водой, консервантом и/или эксципиентами, предпочтительно фосфатным буфером и/или физиологическим раствором и выбранной солью, в водном разбавителе. Либо один флакон с раствором, либо двойной флакон с составом, предполагающим смешивание, можно использовать многократно, и их достаточно для одного или множества циклов лечения пациента, что может быть более удобным по сравнению с существующим в настоящее время режимом лечения.

Настоящие промышленные изделия используют как для немедленного введения, так и в течение периода двадцати четырех часов или дольше. Соответственно, заявленные в настоящем документе промышленные изделия обеспечивают значимые преимущества для пациентов. Составы настоящего изобретения необязательно можно безопасно хранить при температуре от около 2 °С до около 40 °С, причем биологическая активность белка сохраняется в течение продолжительных периодов времени, в связи с чем на упаковке допускается этикетка, указывающая, что раствор можно хранить и/или использовать в течение периода 6, 12, 18, 24, 36, 48, 72, или 96 часов, или более. При использовании разбавителя с консервантом на такой этикетке может быть указан срок годности до 1–12 месяцев, полугодия, полутора и/или двух лет.

Растворы специфичного антитела к ИЛ-23 можно получать способом, который включает смешивание по меньшей мере одного антитела в водном разбавителе.

Смешивание осуществляют с помощью стандартных процедур растворения и смешивания. Например, чтобы получить приемлемый разбавитель, отмеренное количество по меньшей мере одного антитела в воде или буфере соединяют в количествах, достаточных для получения требуемых концентраций белка и необязательно консерванта или буфера. Варианты этого процесса понятны специалисту в данной области. Например, для оптимизации с учетом концентрации и применяемого способа введения можно изменять такие факторы, как порядок добавления компонентов, внесение дополнительных добавок, температура и рН, при которых получают состав.

Заявленные продукты можно предоставлять субъектам в виде прозрачных растворов или двойного флакона, включая флакон с по меньшей мере одним лиофилизированным специфичным к ИЛ-23 антителом, которое разводят содержащимися во втором флаконе водным разбавителем. Либо один флакон с раствором, либо двойной флакон с составом, предполагающим смешивание, можно использовать многократно, и их достаточно для одного или множества циклов лечения

пациента, что может быть более удобным по сравнению с существующим в настоящее время режимом лечения.

Заявленные продукты можно предоставлять пациентам не напрямую, а посредством поставки в аптеки, клиники или другие такие учреждения и организации прозрачных растворов или двойных флаконов, содержащих флакон с по меньшей мере одним лиофилизированным специфическим антителом к ИЛ-23, которое разводят содержащимся во втором флаконе водным разбавителем. В этом случае объем прозрачного раствора может составлять до одного литра или даже больший объем, тем самым обеспечивая большой сосуд, из которого в аптеке или клинике можно дозировать малыми порциями раствор по меньшей мере одного антитела, однократно или многократно, для переливания во флаконы меньшего размера и предоставления покупателям и/или пациентам.

Общепризнанные устройства, содержащие системы с одним флаконом, включают устройства для инъекций типа шприца-ручки, такие как BD Pens, BD Autojector[®], Humaject[®], NovoPen[®], B-D[®]Pen, AutoPen[®] и OptiPen[®], GenotropinPen[®], Genotronorm Pen[®], Humatro Pen[®], Reco-Pen[®], Roferon Pen[®], Biojector[®], Iject[®], J-tip Needle-Free Injector[®], Intraject[®], Medi-Ject[®], Smartject[®], например, изготовленные или разработанные компаниями Becton Dickenson (Франклин Лейкс, штат Нью-Джерси, США, www.bectondickenson.com), Disetronic (Бургдорф, Швейцария, www.disetronic.com); Bioject, г. Портленд, штат Орегон, США (www.bioject.com); National Medical Products, Weston Medical (г. Питерборо, Великобритания, www.weston-medical.com), Medi-Ject Corp. (г. Миннеаполис, штат Миннесота, США, www.mediject.com), и подобные приемлемые устройства. Признанные устройства, содержащие системы двойных флаконов, включают такие системы шприца-ручки для разведения лиофилизированного лекарственного средства в картридже для введения разведенного раствора, например HumatroPen[®]. Примеры других приемлемых устройств включают предварительно заполненные шприцы, автоинжекторы, безыгольные инжекторы и безыгольные наборы для внутривенного вливания.

Продукты могут включать в себя упаковочный материал. В дополнение к информации по требованию контролирующих органов, на упаковочном материале также указывают условия, при которых можно использовать продукт. Упаковочный материал настоящего изобретения содержит, если применимо, инструкции для пациента по разведению по меньшей мере одного антитела к ИЛ-23/ в водном

разбавителе с получением раствора и по использованию раствора в течение периода 2–24 часов или дольше в случае двух флаконов — влажного/сухого, с продуктом. Для одного флакона с продуктом в виде раствора, предварительно заполненного шприца или автоинжектора на упаковке указывают, что такой раствор можно использовать в течение периода 2–24 часов или дольше. Продукты используются человеком в фармацевтических целях.

Составы, применяемые в способе настоящего изобретения, можно получать способом, который включает смешивание антитела к ИЛ-23 и выбранного буфера, предпочтительно фосфатного буфера, содержащего физиологический раствор или выбранную соль. Смешивание антитела к ИЛ-23 и буфера в водном разбавителе осуществляют с использованием стандартных процедур растворения и смешивания. Например, чтобы получить приемлемый состав, отмеренное количество по меньшей мере одного антитела в воде или буфере соединяют с требуемым буферным агентом в воде в количествах, достаточных для получения требуемых концентраций белка и буфера. Варианты этого процесса понятны специалисту в данной области. Например, для оптимизации с учетом концентрации и применяемого способа введения можно изменять такие факторы, как порядок добавления компонентов, внесение дополнительных добавок, температура и рН, при которых получают состав.

В способе изобретения предлагаются фармацевтические композиции, содержащие различные составы, полезные и приемлемые для введения пациенту, человеку или животному. Такие фармацевтические композиции получают с использованием воды в «стандартном состоянии» в качестве разбавителя и путем обычных способов, хорошо известных обычным специалистам в данной области. Например, сначала можно предоставить буферные компоненты, такие как гистидин и гистидина моногидрохлорида гидрат, с последующим добавлением подходящего, не конечного объема водного разбавителя, сахарозы и полисорбата-80 в «стандартном состоянии». Затем можно добавлять выделенное антитело. Наконец, объем фармацевтической композиции доводят до требуемого конечного объема в условиях «стандартного состояния» добавлением в качестве разбавителя воды. Специалисты в данной области определяют ряд других способов, приемлемых для получения фармацевтических композиций.

Фармацевтические композиции могут представлять собой водные растворы или суспензии, содержащие указанную массу каждого компонента на единицу объема воды, или имеющие в «стандартном состоянии» указанный рН. При использовании в

настоящем документе термин «стандартное состояние» означает температуру $25\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ и давление в 1 атмосферу. Термин «стандартное состояние» не используется в данной области для обозначения одного признанного набора температур или давления, но вместо этого является эталонным состоянием, которое определяет температуру и давление, установленные для описания раствора или суспензии с определенной композицией в эталонных условиях «стандартного состояния». Это связано с тем, что объем раствора частично зависит от температуры и давления. Специалисты в данной области поймут, что фармацевтические композиции, эквивалентные описанным в настоящем документе, можно продуцировать при других значениях температуры и давления. То, эквивалентны ли такие фармацевтические композиции описанным в настоящем документе, следует определять в условиях «стандартного состояния», определенных выше (например, температура $25\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ и давление 1 атмосфера).

Важно отметить, что такие фармацевтические композиции могут содержать массы компонентов «около» определенного значения (например, «около 0,53 мг L-гистидина») на единицу объема фармацевтической композиции или иметь значения рН около определенного значения. Масса компонента, присутствующего в фармацевтической композиции, или значение рН находится «около» данного численного значения, если выделенное антитело, присутствующее в фармацевтической композиции, способно связываться с пептидной цепью при нахождении выделенного антитела в фармацевтической композиции или после удаления выделенного антитела из фармацевтической композиции (например, при разведении). Иначе говоря, значение, такое как значение массы компонента или значение рН, составляет «около» заданного численного значения при сохранении и обнаружении активности связывания изолированного антитела после помещения изолированного антитела в фармацевтическую композицию.

Чтобы определить, связываются ли специфичные к ИЛ-23 мАт с аналогичными или отличающимися эпитопами и/или конкурируют ли они друг с другом, проводят анализ конкурентного связывания. Антитела наносят по отдельности на планшеты для ИФА на твердой фазе в виде покрытия. Добавляют конкурирующие мАт с последующим добавлением биотинилированных hgIL-23 . Для положительного контроля в качестве конкурирующего мАт используют то же мАт, что и для покрытия («самоконкуренция»). Связывание ИЛ-23 определяют с помощью стрептавидина. Эти результаты показывают, распознают ли мАт подобные или частично перекрывающиеся эпитопы на ИЛ-23.

Один аспект способа настоящего изобретения предусматривает введение пациенту фармацевтической композиции, содержащей

В одном варианте осуществления фармацевтических композиций концентрация изолированного антитела составляет от около 77 до около 104 мг на мл фармацевтической композиции. В другом варианте осуществления фармацевтических композиций рН составляет от около 5,5 до около 6,5.

Стабильные или консервированные составы можно предоставлять пациентам в виде прозрачных растворов или двойных флаконов, содержащих флакон с по меньшей мере одним лиофилизированным антителом к ИЛ-23, которое разводят содержащимися во втором флаконе консервантом или буфером и эксципиентами в водном разбавителе. Либо один флакон с раствором, либо двойной флакон с составом, предполагающим смешивание, можно использовать многократно, и их достаточно для одного или множества циклов лечения пациента, что может быть более удобным по сравнению с существующим в настоящее время режимом лечения.

С помощью других составов или способов стабилизации антител к ИЛ-23 можно получать содержащее антитело средство, отличное от прозрачного раствора лиофилизированного порошка. К непрозрачным растворам относятся составы, содержащие взвешенные частицы, причем указанные частицы представляют собой композиции, содержащие антитело к ИЛ-23 в структуре с варьирующим размером, и известны под различными названиями, такими как микросферы, микрочастицы, наночастицы, наносферы или липосомы. Такие относительно однородные, по существу сферические, составы в виде частиц, содержащие активный агент, можно формировать путем связывания водной фазы, содержащей активный агент и полимер, с неводной фазой, с последующим испарением неводной фазы и слиянием частиц из водной фазы, как описано в патенте США № 4,589,330. Пористые микрочастицы можно получать с помощью первой фазы, содержащей активный агент и полимер, диспергированные в непрерывном растворителе, и посредством удаления указанного растворителя из суспензии способом сублимационной сушки либо разбавления, экстракции и осаждения, как описано в патенте США № 4,818,542. Предпочтительными полимерами для таких препаратов являются естественные или синтетические сополимеры, либо полимеры, выбранные из группы, состоящей из желатинового агара, крахмала, арабиногалактана, альбумина, коллагена, полигликолевой кислоты, полимолочной кислоты, гликолид-L(-)-лактида, поли(эпсилон-капролактона), поли(эпсилон-капролактон-СО-молочной кислоты), поли(эпсилон-капролактон-СО-гликолевой

кислоты), поли(бета-гидроксимасляной кислоты), полиэтиленоксида, полиэтилена, поли(алкил-2-цианакрилата), поли(гидроксиэтилметакрилата), полиамидов, поли(аминокислот), поли(2-гидроксиэтил-DL-аспартамида), поли(эфира мочевины), поли(L-фенилаланин/этиленгликоль/1,6-диизоцианатгексана) и

5 поли(метилметакрилата). Наиболее предпочтительными полимерами являются полиэфиры, такие как полигликолевая кислота, полимолочная кислота, гликолид-L(-)-лактид, поли(эпсилон-капролактон), поли(эпсилон-капролактон-СО-молочная кислота) и поли(эпсилон-капролактон-СО-гликолевая кислота). Растворители, используемые для растворения полимера и/или активного вещества, включают: воду,

10 гексафторизопропанол, метиленхлорид, тетрагидрофуран, гексан, бензол или полуторагидрат гексафторацетона. Процесс диспергирования содержащей активное вещество фазы со второй фазой может включать принудительный пропуск первой фазы через отверстие в сопле для образования капель.

Составы в виде сухого порошка можно получать иными способами помимо

15 лиофилизации, например, путем распылительной сушки, экстракции растворителя испарением или осаждения кристаллической композиции, за которыми следуют одна или несколько стадий удаления водного или неводного растворителя. Получение препарата антитела путем распылительной сушки описано в патенте США № 6,019,968. Композиции антитела в виде сухого порошка можно получать путем распылительной

20 сушки растворов или суспензий антитела и необязательно эксципиентов в растворителе в условиях, обеспечивающих получение вдыхаемого сухого порошка. Растворители могут включать полярные соединения, такие как вода и этанол, которые можно легко высушивать. Стабильность антитела можно усилить путем выполнения процедуры распылительной сушки в отсутствии кислорода, например, под слоем азота или с

25 применением азота в качестве сушильного газа. Другой относительно сухой состав является дисперсией множества перфорированных микроструктур, диспергированных в суспензионной среде, обычно содержащей пропеллент гидрофторалкан, как описано в WO 9916419. Стабилизированные дисперсии можно вводить в легкие пациента с помощью ингалятора мерных доз. Оборудование, используемое для промышленного

30 производства лекарственного средства путем распылительной сушки, выпускается Buchi Ltd. или Niro Corp.

Антитело к ИЛ-23, в стабильных или консервированных составах или растворах, описанных в настоящем документе, в соответствии с настоящим изобретением можно вводить пациенту с помощью разных способов доставки, включая

подкожную или внутримышечную инъекцию; трансдермальное введение, введение в легкие, через слизистую оболочку, посредством имплантата, осмотического дозатора, кассеты, микродозатора или других способов, признанных специалистами в данной области, как хорошо известно в данной области.

5 **Терапевтическое применение**

В настоящем изобретении также предложен известный специалистам в данной области или описанный в настоящем документе способ модуляции или лечения болезни Крона на уровне клетки, ткани, органа или на уровне организма животного или пациента с применением по меньшей мере одного антитела к ИЛ-23 по настоящему изобретению, например, путем введения в терапевтически эффективном количестве специфичного антитела к ИЛ-23 или его приведения в контакт с клеткой, тканью, органом или в целом с организмом животного или пациента.

Любой способ настоящего изобретения может включать в себя введение эффективного количества композиции или фармацевтической композиции, содержащей антитело к ИЛ-23, в клетку, ткань, орган, животному или пациенту, нуждающемуся в таком модулировании, лечении или терапии. Такой способ может необязательно дополнительно включать совместное введение или применение комбинированной терапии для лечения таких заболеваний или расстройств, причем введение указанного по меньшей мере одного антитела к ИЛ-23, его определенного участка или варианта, дополнительно включает введение (до, одновременно и/или после) по меньшей мере одного средства, выбранного из по меньшей мере одного антагониста ФНО (например, без ограничения, химического или белкового антагониста ФНО, моноклонального или поликлонального антитела к ФНО или его фрагмента, растворимого рецептора ФНО (например, p55, p70 или p85) или его фрагмента, их слитых полипептидов, или низкомолекулярного антагониста ФНО, например связывающего ФНО белка I или II (ТВР-1 или ТВР-II), нерелимонмаба, инфликсимаба, этернацепта (Enbrel™), адалимулаба (Humira™), CDP-571, CDP-870, афелимомаба, ленерцепта и т. п.), противоревматического ЛС (например, метотрексата, ауранофина, ауротиоглюкозы, азатиоприна, золота-натрия тиомалата, гидроксихлорохина сульфата, лефлуномида, сульфасалзина), миорелаксанта, наркотического ЛС, нестероидного противовоспалительного средства (НПВС), анальгетика, анестезирующего ЛС, седативного ЛС, ЛС местной анестезии, нервно-мышечного блокатора, противомикробного ЛС (например, аминогликозида, противогрибкового ЛС, противопаразитарного ЛС, противовирусного ЛС, карбапенема, цефалоспорина,

фторхинолона, макролида, пенициллина, сульфонида, тетрациклина, другого противомикробного ЛС), противовоспалительного ЛС, кортикостероида, анаболического стероида, ЛС для лечения сахарного диабета, минерала, диетического ЛС, тиреоидного ЛС, витамина, гормона регуляции кальция, ЛС против диареи, ЛС против кашля, противорвотного ЛС, ЛС против язвы, слабительного ЛС, антикоагулянта, эритропоэтина (например, эпоэтина альфа), филграстима (например, G-CSF, Neupogen), сарграмостима (GM-CSF, Leukine), иммунизации, иммуноглобулина, иммунодепрессанта (например, базиликсимаба, циклоспорина, даклизумаба), гормона роста, заместительной гормональной терапии, модулятора рецепторов эстрогена, мидриатика, ЛС циклоплегии, алкилирующего агента, антиметаболита, ингибитора митоза, радиофармацевтического ЛС, антидепрессанта, ЛС против мании, антипсихотического ЛС, анксиолитического ЛС, снотворного ЛС, симпатомиметика, возбуждающего ЛС, донепезила, такрина, ЛС для лечения астмы, бета-агониста, стероида для ингаляции, ингибитора лейкотриена, метилксантина, кромолина, адреналина или его аналога, дорназы альфа (Pulmozyme), цитокина или антагониста цитокина. Приемлемые дозировки хорошо известны специалистам в данной области. См., например, Wells et al., eds., *Pharmacotherapy Handbook*, 2nd Edition, Appleton and Lange, Stamford, CT (2000); *PDR Pharmacopoeia*, Tarascon Pocket Pharmacopoeia 2000, Deluxe Edition, Tarascon Publishing, Loma Linda, CA (2000); *Nursing 2001 Handbook of Drugs*, 21st edition, Springhouse Corp., Springhouse, PA, 2001; *Health Professional's Drug Guide 2001*, ed., Shannon, Wilson, Stang, Prentice-Hall, Inc, Upper Saddle River, NJ, все из которых полностью включены в настоящий документ путем ссылки.

Терапевтические способы лечения

Как правило, эффективное лечение болезни Крона осуществляют путем введения эффективного количества или дозы композиции, содержащей антитело к ИЛ-23, причем суммарное количество антитела к ИЛ-23 в этой композиции составляет в среднем в диапазоне от около 0,01 до 500 миллиграмм на килограмм массы тела пациента в одной дозе и предпочтительно от по меньшей мере около 0,1 до 100 миллиграмм антитела на килограмм массы тела пациента за одно или более введений, в зависимости от специфичной активности активного агента, содержащегося в композиции. Альтернативно эффективная концентрация в сыворотке может составлять 0,1–5000 μ г/мл сыворотки за одно или несколько введений. Приемлемые дозы известны медицинским специалистам и, разумеется, зависят от конкретного

болезненного состояния, удельной активности вводимой композиции и конкретного пациента, получающего лечение. В некоторых случаях для достижения требуемого терапевтического количества может понадобиться выполнение повторного введения, т. е. повторных отдельных введений конкретной контролируемой или измеренной дозы, причем отдельные введения повторяют до достижения требуемой суточной дозы или эффекта.

Предпочтительные дозы могут необязательно включать 0,1, 0,2, 0,3, 0,4, 0,5, 0,6, 0,7, 0,8, 0,9, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99 и/или 100–500 мг/кг за введение, или любой интервал, значение или часть этого диапазона, либо количество для достижения в сыворотке концентрации 0,1, 0,5, 0,9, 1,0, 1,1, 1,2, 1,5, 1,9, 2,0, 2,5, 2,9, 3,0, 3,5, 3,9, 4,0, 4,5, 4,9, 5,0, 5,5, 5,9, 6,0, 6,5, 6,9, 7,0, 7,5, 7,9, 8,0, 8,5, 8,9, 9,0, 9,5, 9,9, 10, 10,5, 10,9, 11, 11,5, 11,9, 20, 12,5, 12,9, 13,0, 13,5, 13,9, 14,0, 14,5, 4,9, 5,0, 5,5, 5,9, 6,0, 6,5, 6,9, 7,0, 7,5, 7,9, 8,0, 8,5, 8,9, 9,0, 9,5, 9,9, 10, 10,5, 10,9, 11, 11,5, 11,9, 12, 12,5, 12,9, 13,0, 13,5, 13,9, 14, 14,5, 15, 15,5, 15,9, 16, 16,5, 16,9, 17, 17,5, 17,9, 18, 18,5, 18,9, 19, 19,5, 19,9, 20, 20,5, 20,9, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 96, 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1000, 1500, 2000, 2500, 3000, 3500, 4000, 4500 и/или 5000 μ г/мл сыворотки за однократное или многократное введение, или любой интервал, значение или часть этого диапазона.

В альтернативном варианте осуществления вводимые дозы могут варьироваться в зависимости от известных факторов, таких как фармакодинамические показатели конкретного агента, режим и способ его введения; возраст, состояние здоровья и масса реципиента; природа и степень выраженности симптомов, тип сопутствующего лечения, частота введения и требуемый эффект. Обычно доза активного ингредиента составляет от около 0,1 до 100 мг на килограмм массы тела. Как правило, от 0,1 до 50 и предпочтительно от 0,1 до 10 миллиграмм на килограмм за одно введение или в лекарственной форме с замедленным высвобождением будет эффективно для достижения желаемых результатов.

В качестве не налагающего ограничения примера, лечение людей или животных можно проводить в виде однократного или периодического введения по меньшей мере одного антитела по настоящему изобретению в дозе от 0,1 до 100 мг/кг, например, 0,5,

0,9, 1,0, 1,1, 1,5, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 40, 45, 50, 60, 70, 80, 90 или 100 мг/кг в сутки, по меньшей мере в одни из суток 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39 или 40, либо, альтернативно или
5 дополнительно, по меньшей мере на одной из недель 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51 или 52, либо, альтернативно или
10 дополнительно, по меньшей мере в один год из 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 или 20, либо в любом их сочетании, с введением однократной, инфузионной или повторных доз.

Лекарственные формы (композиция), приемлемые для внутреннего введения, по существу содержат от около 0,001 мг до около 500 мг активного ингредиента на единицу или контейнер. В этих фармацевтических композициях активный ингредиент обычно присутствует в количестве около 0,5–99,999% масс. в расчете на общую массу
15 композиции.

Для парентерального введения антитела лекарственная форма может представлять собой раствор, суспензию, эмульсию, частицу, порошок или лиофилизированный порошок вместе с фармацевтически приемлемым носителем для парентерального введения или отдельно от носителя. Примерами таких носителей
20 являются вода, физиологический раствор, раствор Рингера, раствор глюкозы и человеческий сывороточный альбумин 1–10%. Кроме того, можно применять липосомы и безводные среды, например нелетучие масла. Носитель или лиофилизированный порошок может содержать добавки, способствующие изотоничности (например, хлорид натрия, маннит) и химической стабильности
25 (например, буферы и консерванты). Состав стерилизуют известными или приемлемыми методиками.

Приемлемые фармацевтические носители описаны в последнем издании Remington's Pharmaceutical Sciences, A. Osol, которое является стандартным источником ссылок в данной области.

30 **Альтернативные способы введения**

В соответствии с настоящим изобретением для введения фармацевтически эффективных количеств антитела к ИЛ-23 можно применять множество известных и разработанных способов ведения. Далее описано введение через легкие, однако в соответствии с настоящим изобретением можно также применять другие способы

введения, дающие приемлемые результаты. Антитела к ИЛ-23 по настоящему изобретению можно доставлять в носителе в виде раствора, эмульсии, коллоида или суспензии, либо в виде сухого порошка с применением любого из множества устройств и способов, приемлемых для введения путем ингаляции или другими способами, описанными в настоящем документе или известными специалистам в данной области.

Парентеральные составы и введение

Составы для парентерального введения могут в качестве обычных эксципиентов содержать стерильную воду, физиологический раствор, полиалкиленгликоли, такие как полиэтиленгликоль, масла растительного происхождения, гидрогенизированные нафталины и т. п. Водные или масляные суспензии для инъекций можно получать с использованием подходящего эмульгатора или увлажнителя и суспендирующего агента известными способами. Для инъекций можно использовать нетоксичный, пригодный для неперорального введения, разбавляющий агент, например водный раствор, стерильный раствор для инъекций или суспензию в растворителе. В качестве пригодной несущей среды или растворителя допустимо использовать воду, раствор Рингера, изотонический раствор и т. п.; в качестве обычного растворителя или суспендирующего растворителя можно использовать стерильное нелетучее масло. Для этого можно использовать нелетучее масло и жирную кислоту любого вида, включая природные или синтетические либо полусинтетические жирные масла или жирные кислоты; природные или синтетические либо полусинтетические моно-, ди- или триглицериды. Парентеральное введение известно в данной области и включает, без ограничений, общепринятые средства инъекции, пневматическое безыгольное инъекционное устройство, описанное в патенте США № 5,851,198, и лазерный перфоратор, описанный в патенте США № 5,839,446, полностью включенные в настоящий документ путем ссылки.

Альтернативные способы доставки

Изобретение дополнительно относится к введению антитела к ИЛ-23 путем парентерального, подкожного, внутримышечного, внутривенного, внутрисуставного, внутрибронхиального, внутрибрюшного, интракапсулярного, внутрихрящевого, внутриполостного, внутриречного, внутримозжечкового, внутрижелудочкового, внутрикишечного, интрацервикального, внутрижелудочного, внутрипеченочного, интрамиокардиального, внутрикостного, внутритазового, интраперикардиального, интраперитонеального, интраплеврального, в предстательную железу, внутрилегочного, интраректального, интраренального, интраретинального,

интраспинального, интрасиновиального, внутригрудного, внутриматочного, внутрипузырного, в пораженные ткани, болюсного, вагинального, ректального, буккального, подъязычного, интраназального или чрескожного введения. Композицию антитела к ИЛ-23 можно получать для применения парентеральным (подкожным, внутримышечным или внутривенным) или любым другим способом введения, в частности, в форме жидких растворов или суспензий; для применения вагинальным или ректальным способом введения, в частности в мягких формах, таких как, без ограничений, кремы и суппозитории; для трансбуккального или подъязычного введения, например, без ограничений, в форме таблеток или капсул; или для интраназального введения, например, без ограничений, в форме порошков, капель в нос или аэрозолей, либо в виде определенных агентов; или для введения трансдермально, например, без ограничений, в виде систем доставки в геле, мази, лосьоне, суспензии или пластыре с химическими ускорителями, такими как диметилсульфоксид, либо для модификации структуры кожи, либо для повышения концентрации лекарственного средства в трансдермальном пластыре (Junginger, et al. In "Drug Permeation Enhancement"; Hsieh, D. S., Eds., pp. 59–90 (Marcel Dekker, Inc. New York 1994, публикация полностью включена в настоящий документ путем ссылки), или с окисляющими агентами, которые облегчают нанесение составов, содержащих белки и пептиды, на кожу (WO 98/53847), или с применением электрического поля для создания временных траекторий доставки, например, путем электропорации, или для ускорения движения заряженных лекарственных средств через кожу, например, путем ионофореза, или применения ультразвука, например сонофореза (патенты США № 4,309,989 и 4,767,402) (приведенные выше публикации и патенты полностью включены в настоящий документ путем ссылки).

Приведенное выше описание изобретения по существу дополнительно разъясняется далее с помощью примеров, которые представлены в качестве иллюстрации и не являются ограничивающими. Дополнительные подробности изобретения иллюстрируют следующими ниже не имеющими ограничительного характера примерами. Описание всех цитат в спецификации прямо включено в настоящий документ путем ссылки.

Пример 1

Данные доклинических исследований, свидетельствующие о том, что ИЛ-23 является мишенью при лечении болезни Крона

В ходе генетических исследований и исследований на животных моделях изучали вклад ИЛ-12 и ИЛ-23 в патофизиологию болезни Крона. Результаты показывают, что ИЛ-23 играет преобладающую роль в воспалительных заболеваниях кишечника (ВЗК), а полученные новые данные свидетельствуют о том, что

5 блокирование только ИЛ-23 может быть более эффективной стратегией лечения, чем блокирование одновременно ИЛ-12 и ИЛ-23.

Первоначальные наблюдения на основе данных, полученных в результате генетических исследований и исследований на моделях животных, позволяют предположить, что болезнь Крона опосредуется ИЛ-12 и/или ИЛ-23, возможно,

10 посредством индуцируемых ими сигнальных путей Th1 и Th17 соответственно. Однако все больше данных свидетельствует о преобладающей роли ИЛ-23 в развитии болезни Крона. Исследования по полногеномному поиску ассоциаций выявили полиморфизмы в гене ИЛ-23R, которые ассоциированы с болезнью Крона. Роль ИЛ-23 в развитии воспаления кишечника была показана на нескольких моделях мышей. У мышей,

15 получавших антитела к ИЛ-23, наблюдалось ослабление воспаления, а мыши с генетической делецией субъединицы ИЛ-23 p19 оказались защищены в нескольких моделях воспаления кишечника.

Данные клинических исследований, подтверждающие эффективность нацеливания на ИЛ-23 при лечении болезни Крона

Потенциальная терапевтическая роль ИЛ-23 в развитии болезни Крона была впервые установлена при клинических исследованиях антагонистов ИЛ-12/23p40 (бриакинумаб и устекинумаб). Устекинумаб (STELARA®) недавно был одобрен для

20 лечения болезни Крона, протекающей в умеренной и тяжелой формах. Хотя эти подходы к лечению продемонстрировали, что блокада как ИЛ-12, так и ИЛ-23

25 эффективна при лечении болезни Крона, при их использовании не смогли установить относительный вклад 2 цитокинов.

В более поздних исследованиях 2 антагонистов к ИЛ-23, рисанкизумаба (ранее VI-655066) и бразикумаба (ранее MEDI2070, AMG 139), сообщалось о результатах фазы 2 исследований, демонстрирующих эффективность блокады ИЛ-23 при лечении

30 пациентов с болезнью Крона в умеренной и тяжелой формах. Степень эффективности, наблюдаемая в каждом из этих исследований, дает основания предполагать, что есть потенциальная возможность повышения эффективности лечения по сравнению с лечением с использованием устекинумаба (к ИЛ-12/23), но с учетом ограниченности

способа исследования по перекрестным сравнениям, а также сравнительно небольшого масштаба фазы 2 исследований ИЛ-23.

Клинический опыт применения нацеленной на ИЛ-12/23 терапии (устекинумаб) при болезни Крона

5 Программа фазы 3 исследования использования устекинумаба при болезни Крона включала два 8-недельных исследования по оценке эффективности и безопасности введения устекинумаба внутривенно (в/в) и одно поддерживающее исследование по оценке эффективности и безопасности подкожного (п/к) поддерживающего введения устекинумаба; общая продолжительность составила 52
10 недели лечения. Оценку устекинумаба проводили по всему спектру биологически приемлемых пациентов с болезнью Крона, т. е. пациентов, при лечении которых неэффективными оказались традиционная терапия или биологическая терапия. После однократного в/в устекинумаба в начальной дозе ~6 мг/кг на неделе 0 у приблизительно 21% и 40% участников исследования с неэффективностью традиционной и
15 биологической терапии соответственно (по сравнению с примерно 7% и 20% участников исследования, получавших плацебо, соответственно) была достигнута клиническая ремиссия на неделе 8 (по оценке индекса активности болезни Крона [CDAI]). Среди участников, у которых наблюдался ответ на в/в введение устекинумаба и которые были повторно рандомизированы для получения поддерживающей терапии устекинумабом в виде п/к введения в дозе 90 мг каждые 8 недель (1 р/8 нед) или 90 мг
20 каждые 12 недель (1 р/12 нед), примерно 53% и 49% участников находились в клинической ремиссии на неделе 52 соответственно, по сравнению с участниками, получавшими поддерживающую терапию с плацебо (36%).

Клинический опыт применения нацеленной на ИЛ-23 терапии при болезни Крона

25 Во фазе 2 недавних исследований 2 моноклональных антител к ИЛ-23, рисанкизумаба и бразикумаба, была продемонстрирована их эффективность в облегчении клинических признаков и симптомов, снижении уровней воспалительных биомаркеров и улучшении данных эндоскопии у участников с болезнью Крона, в первую очередь невосприимчивых к биологической терапии.

30 Исследование способом перекрестных сравнений частоты достижения клинической ремиссии при применении блокаторов к ИЛ-23 свидетельствует о потенциальной возможности увеличения эффективности лечения с указанными блокаторами по сравнению с лечением с использованием устекинумаба.

Примечательно, что начальные дозы, использованные в исследованиях как

рисанкизумаба (200 и 600 мг в/в на неделе 0, 4, 8, так и бразикумаба (700 мг в/в на неделе 0, 4), были значительно выше утвержденных доз устекинумаба (~ 6 мг/кг в/в на неделе 0). Мета-анализ при перекрестном сравнении соединений показал, в частности, что дозировка рисанкизумаба может находиться на верхнем конце кривой зависимости дозозависимого ответа.

Кроме того, фаза 2 исследования с рисанкизумабом также показала, что частота ответа потенциально может не достигать максимума до истечения 6-го месяцев лечения. При дозировке 600 мг в/в каждые 4 недели (1 р/4 нед) на срок до 6 месяцев примерно 50% частоты достижения клинической ремиссии наблюдали у всех пациентов, получавших лечение, что значительно выше, чем частота ремиссии, о которой ранее сообщалось, при лечении с использованием других препаратов, включая устекинумаб, в исследованиях с аналогичными группами, с аналогичными контрольными моментами времени наблюдения. Из тех участников, которые достигли ремиссии через 6 месяцев лечения и продолжали поддерживающую терапию рисанкизумабом (180 мг подкожно 1 р/8 нед), примерно 70% оставались в ремиссии через 1 год лечения.

Общее обоснование использования гуселькумаба при лечении болезни Крона

Таким образом, объединенные данные, полученные в результате генетических и доклинических исследований, указывают на значимую роль селективного воздействия на ИЛ-23 при модуляции патофизиологии ВЗК (воспалительные заболевания кишечника (желудочно-кишечного тракта)). Имеющийся клинический опыт использования 2 антагонистов ИЛ-23 и установленные данные об утвержденном антагонисте ИЛ-12/23 (устекинумабе) являются доказательствами механизма воздействия и доказательствами правильности концепции относительно нацеливания на ИЛ-23 при лечении болезни Крона соответственно. В совокупности имеющиеся данные подтверждают необходимость изучения гуселькумаба для его использования при лечении болезни Крона.

Основной конечный показатель

Основным конечным показателем является клиническая ремиссия на неделе 12 (определяемая как показатель CDAI < 150 баллов). По этому конечному показателю будут проведены сравнения каждой группы, получающей гуселькумаб, с группами, получающими плацебо.

Главные вторичные конечные показатели

Главные вторичные конечные показатели описаны ниже.

- Клиническая ремиссия на неделе 48 (определяемая как показатель CDAI < 150).
- Стойкая клиническая ремиссия, достигнутая на неделе 48 (определяется как CDAI < 150 баллов для $\geq 80\%$ от всех посещений врача пациентом в период с недели 12 и до недели 48 включительно [т. е. по меньшей мере 8 из 10 посещений]).
- 5 • Клиническая ремиссия без кортикостероидов, достигнутая на неделе 48 (определяемая как CDAI < 150 баллов на неделе 48 и отсутствие приема кортикостероидов на неделе 48)
- Ремиссия PRO-2, достигнутая на неделе 12 (определяемая как среднесуточная частота болей в области живота (AP) на уровне 1 или ниже и среднесуточная частота стула (SF) 10 на уровне 3 или ниже, т. е. $AP \leq 1$ и $SF \leq 3$)
- Ремиссия PRO-2, достигнутая на неделе 48
- Ответ пациента на лечение, определенный по данным эндоскопии, на неделе 12 (определяется как улучшение по меньшей мере на 50% по сравнению с исходным уровнем по шкале SES-CD или по шкале $SES-CD \leq 2$)
- 15 • Ответ пациента на лечение, определенный по данным эндоскопии, на неделе 48
- Реакция на усталость на неделе 12 (определяемое на основе краткой формы PROMIS Fatigue Short Form 7a; требует определения по SAP).

Краткосрочные конечные показатели на неделе 12 будут определены при сравнении каждой группы, получающей гуселькумаб, с группой плацебо, а 20 долгосрочные конечные показатели на неделе 48 будут определены при сравнении каждой группы, получающей гуселькумаб, с группой, получающей устекинумаб.

На основании отсутствия нежелательных явлений у яванских макаков после 5 недель субхронического внутривенного введения гуселькумаба один раз в неделю в дозе 50 мг/кг и 24 недель хронического подкожного введения один раз в неделю был 25 сделан вывод, что с неклинической точки зрения риск для пациентов с болезнью Крона считается низким при введении гуселькумаба один раз в 4 недели внутривенно в дозах до 1200 мг (приблизительно 16 мг/кг для человека) с последующим введением предлагаемых поддерживающих доз до 200 мг подкожно 1 p/4 нед. Как обобщено 30 выше, фактические данные о результатах воздействия (площадь под кривой зависимости концентрации лекарственного средства в сыворотке крови от времени (AUC)), достигнутых у обезьян, относительно прогнозируемого интервала AUC при внутривенном клиническом введении препарата в период с недели 8 и до недели 12 или интервала AUC при подкожном введении поддерживающей дозы для стабильной концентрации препарата в сыворотке крови (обе кривые нормализованы по

еженедельной дозировке для сравнения с интервалом дозировок для обезьян) показывают, что при использовании предлагаемых клинических дозировок обеспечивается достаточный коэффициент запаса допустимого уровня воздействия. Это подтверждается также тем фактом, что гуселькумаб представляет собой

5 современный биотерапевтический препарат с хорошим профилем клинической безопасности при его применении для лечения пациентов с бляшечным псориазом, при этом данные получены в основном при использовании подкожного введения в дозе 100 мг, но также в дозах до 300 мг подкожно и в дозе 10 мг/кг внутривенно ограниченному числу пациентов с бляшечным псориазом и здоровым добровольцам

10 соответственно во время фазы 1 клинической разработки. Наконец, применение рисанкизумаба (ингибитор ИЛ-23 с клинической активностью, сравнимой с гуселькумабом) изучали с участием пациентов с болезнью Крона, причем вводили до 600 мг препарата в/в 1 р/4 нед в течение 6 месяцев, при этом сообщалось, что такая дозировка хорошо переносится.

15 Гуселькумаб является результатом серьезных доклинических и клинических разработок. Совокупные результаты фазы 1, фазы 2 и фазы 3 клинических исследований по эффективности и безопасности с участием здоровых добровольцев и пациентов с бляшечным псориазом, а также недавнее одобрение регулирующими органами препарата для применения при бляшечном псориазе подтвердили

20 благоприятный профиль соотношения польза/риск для гуселькумаба при лечении бляшечного псориаза. Этот клинический опыт поддержал текущую разработку гуселькумаба для его применения при других воспалительных заболеваниях, таких как PsA, GPP, EP и PPP.

Имеющиеся данные по животным и людям подтверждают важнейшую роль ИЛ-23 в патогенезе болезни Крона, а исследования с другими моноклональными антителами (mAb) к ИЛ-23 позволяют предполагать, что при избирательном

25 нацеливании на ИЛ-23 можно достичь более высоких уровней эффективности, чем наблюдаемые при использовании других механизмов воздействия, включая использование устекинумаба, при лечении у пациентов с болезнью Крона средней и

30 тяжелой степени тяжести.

Данные клинических исследований по устекинумабу и другим моноклональным антителам к ИЛ-23 позволяют предположить, что для достижения максимальной эффективности при болезни Крона могут потребоваться более высокие дозировки дозы, чем те, которые используют при лечении псориаза. Например, начальная доза

устекинумаба при болезни Крона (~ 6 мг/кг в/в у пациента с массой тела 70 кг) примерно в 4 раза выше, чем при псориазе (45 мг п/к на неделе 0 и неделе 4). Таким образом, в рамках фазы 2 этого исследования будут изучать применение начальных доз до 1200 мг внутривенно, вводимых трижды 1 р/4 нед, и поддерживающих доз до 200 мг подкожно 1 р/4 нед, чтобы оценить, необходимы ли более высокие дозировки для достижения максимальной эффективности при лечении болезни Крона. Данные неклинических токсикологических исследований показывают, что при использовании предлагаемых в данном протоколе клинических дозировок обеспечивается достаточный коэффициент запаса допустимого уровня воздействия. Кроме того, сопоставимые дозы/воздействия ранее оценивали на фазе 2 исследований двух других мАт к ИЛ-23, при этом не было зарегистрировано никаких серьезных проблем с безопасностью после лечения в течение 1 года.

Утвержденная схема введения гуселькумаба при псориазе (100 мг подкожно на неделе 0 и неделе 4, а затем 1 р/8 нед) имеет благоприятный профиль безопасности, а на фазе 2 исследования лечения ревматоидного артрита было обнаружено, что схемы введения, предусматривающие введение препарата вплоть до 200 мг подкожно 1 р/8 нед, имеют благоприятный профиль безопасности. Главным риском является заражение. Другие потенциальные проблемы безопасности, также более подробно описанные в ИВ гуселькумаба, основаны на том, что гуселькумаб является иммуномодулирующим мАт и связан с ответом на развитие злокачественных опухолей и гиперчувствительности. Поскольку схемы введения более высоких доз гуселькумаба (предложенные в этом протоколе) ранее не изучались, безопасность будет оцениваться независимым комитетом по мониторингу данных (DMC) в начальной когорте из 25 пациентов.

Первоначальная оценка безопасности применения препарата в исходной когорте обеспечит приемлемую безопасность для дальнейшего изучения предложенных схем введения на фазе 2 и фазе 3 исследования на большем числе пациентов, а текущие оценки безопасности неслепым способом, проводимые DMC на протяжении фазы 2 и фазы 3 исследования, обеспечат безопасность пациентов в течение всей программы разработки.

Активный препарат сравнения: Устекинумаб

Устекинумаб (STELARA) представляет собой активный препарат сравнения в этом протоколе. Устекинумаб представляет собой человеческий каппа-мАт IgG1,

который с высокой аффинностью и специфичностью связывается с субъединицей p40, общей как для человеческого ИЛ-12, так и для человеческого ИЛ-23. Устекинумаб одобрен для лечения болезни Крона умеренного или тяжелого течения у взрослых пациентов в нескольких странах, включая США, Канаду и ЕС; в настоящее время в ряде стран мира рассматриваются заявки на одобрение данного препарата регулирующими органами для лечения болезни Крона. Предложенные начальная и поддерживающая дозировки устекинумаба в этом протоколе согласуются с утвержденной в настоящее время прилагаемой к лекарству информации в странах всего мира и согласуются со схемами дозирования, оцененными в программе фазы 3 клинических исследований по разработке устекинумаба для лечения болезни Крона, которая установила эффективность и безопасность применения устекинумаба у пациентов с болезнью Крона умеренного или тяжелого течения.

Фаза 2 исследования диапазона доз (GALAXI 1)

Цели

15 Главные цели

- Оценить клиническую эффективность гуселькумаба у участников исследования с болезнью Крона.
- Оценить безопасность гуселькумаба.

Вторичные цели

- 20 • Оценить дозозависимый ответ гуселькумаба для информирования о выборе дозы для фазы 3 данного протокола.
- Оценить эффективность гуселькумаба в отношении улучшения показателей, определяемого путем эндоскопии.
- Для оценки фармакокинетики (ФК), иммуногенности и фармакодинамики (ФД) 25 терапии гуселькумабом, включая изменения уровней С-реактивного белка (СРБ) и фекального кальпротектина.

Другие цели

- Оценить влияние гуселькумаба на связанное со здоровьем качество жизни (HRQOL) и экономические показатели в экономике здравоохранения.
- 30 • Оценить эффективность гуселькумаба в отношении гистологического улучшения.
- Оценить влияние лечения гуселькумабом на профили экспрессии генов слизистой оболочки кишечника и клеточный состав, связанные с болезнью Крона.

Конечные показатели

Краткосрочная эффективность использования гуселькумаба в сравнении с плацебо оценивают по основному конечному показателю и главным вторичным конечным показателям. Эти конечные показатели описаны ниже.

5 Основной конечный показатель

Изменение количества баллов по шкале CDAI на неделе 12 относительно исходного уровня.

Главные вторичные конечные показатели

- 10 • Клиническая ремиссия на неделе 12 (определяемая как показатель CDAI < 150 баллов).
- Клинический ответ на неделе 12 (определяемый как снижение показателя CDAI на ≥ 100 баллов относительно исходного уровня или CDAI < 150 баллов).
- 15 • Ремиссия PRO-2, достигнутая на неделе 12 (определяемая как среднесуточная частота болей области живота (AP) на уровне 1 или ниже и среднесуточная частота стула (SF) на уровне 3 или ниже, т. е. $AP \leq 1$ и $SF \leq 3$).
- Ответ по клиническим показателям и биомаркерам на неделе 12 (клинический ответ, определяемый на основе оценки по шкале CDAI и снижения на 50 или более процентов относительно исходного уровня количества С-реактивного белка (СРБ) или фекального кальпротектина).
- 20 • Ответ пациента на лечение, определенный по данным эндоскопии, достигнутый на неделе 12 (определяется как улучшение по меньшей мере на 50% по сравнению с исходным уровнем на основе простого эндоскопического индекса активности болезни Крона (SES-CD) или $SES-CD \leq 2$)

Гипотеза

- 25 Основная гипотеза, появившаяся в результате исследования GALAXI 1, заключается в том, что гуселькумаб превосходит плацебо в снижении относительно исходного уровня показателя CDAI у участников исследования с болезнью Крона умеренного и тяжелого течения.

30 Исследования фазы 3 по подтверждению дозирования (GALAXI 2 и GALAXI 3)

GALAXI 2 и GALAXI 3 являются идентичными исследованиями и ориентируются на те же цели и конечные показатели, которые представлены ниже.

Цели

Главные цели

- Оценить клиническую эффективность гуселькумаба у участников исследования с болезнью Крона.
- 5 • Оценить безопасность гуселькумаба.

Вторичные цели

- Оценить эффективность гуселькумаба в отношении улучшения показателей, определяемого путем эндоскопии.
- 10 • Оценить безопасность гуселькумаба по критериям HRQOL.
- Оценить ФК, иммуногенность и ФД гуселькумаба, включая изменения уровней СРБ и фекального кальпротектина.

Другие цели

- Оценить влияние применения гуселькумаба на экономические показатели в экономике здравоохранения.
- 15 • Оценить эффективность гуселькумаба в отношении гистологического улучшения.
- Оценить влияние лечения гуселькумабом на профили экспрессии генов слизистой оболочки кишечника и клеточный состав, связанные с болезнью Крона.

Конечные показатели

20 **Основной конечный показатель**

Основным конечным показателем является клиническая ремиссия на неделе 12 (определяемая как показатель CDAI < 150 баллов). По этому конечному показателю будут проведены сравнения каждой группы, получающей гуселькумаб, с группами, получающими плацебо.

25 **Главные вторичные конечные показатели**

Главные вторичные конечные показатели описаны ниже.

- Клиническая ремиссия на неделе 48 (определяемая как показатель CDAI < 150).
- Стойкая клиническая ремиссия, достигнутая на неделе 48 (определяется как CDAI < 150 баллов для $\geq 80\%$ от всех посещений врача пациентом в период с недели 12 и до недели 48 включительно [т. е. по меньшей мере 8 из 10 посещений]).
- 30 • Клиническая ремиссия без кортикостероидов, достигнутая на неделе 48 (определяемая как CDAI < 150 баллов на неделе 48 и отсутствие приема кортикостероидов на неделе 48)

- Ремиссия PRO-2, достигнутая на неделе 12 (определяемая как среднесуточная частота болей в области живота (AP) на уровне 1 или ниже и среднесуточная частота стула (SF) на уровне 3 или ниже, т. е. $AP \leq 1$ и $SF \leq 3$)
 - Ремиссия PRO-2, достигнутая на неделе 48
- 5 • Ответ пациента на лечение, определенный по данным эндоскопии, на неделе 12 (определяется как улучшение по меньшей мере на 50% по сравнению с исходным уровнем по шкале SES-CD или по шкале $SES-CD \leq 2$)
- Ответ пациента на лечение, определенный по данным эндоскопии, на неделе 48
 - Реакция на усталость на неделе 12 (определяемое на основе краткой формы PROMIS
- 10 Fatigue Short Form 7a; требует определения по SAP).
- Краткосрочные конечные показатели на неделе 12 будут определены при сравнении каждой группы, получающей гуселькумаб, с группой плацебо, а долгосрочные конечные показатели на неделе 48 будут определены при сравнении каждой группы, получающей гуселькумаб, с группой, получающей устекинумаб.

15 **Гипотеза**

Основная гипотеза, как для GALAXI 2, так и для GALAXI 3, заключается в том, что гуселькумаб превосходит плацебо в достижении клинической ремиссии на неделе 12 у участников исследования с болезнью Крона умеренного или тяжелого течения.

В исследованиях GALAXI 2 и GALAXI 3 также будут оценивать относительную

20 эффективность длительного лечения гуселькумабом по сравнению с лечением устекинумабом. Хотя конечной целью является демонстрация того, что гуселькумаб по эффективности превосходит устекинумаб, для подтверждения основных вторичных гипотез при сравнении с устекинумабом также будет проведен первоначальный тест на

25 отсутствие превосходства контрольного препарата над изучаемым, поскольку общий профиль гуселькумаба может быть благоприятнее по сравнению с устекинумабом (с точки зрения общей эффективности и безопасности), даже если окончательные результаты указывают только на то, что относительная эффективность не уступает устекинумабу по определенному конечному показателю.

СХЕМА ИССЛЕДОВАНИЯ

30 **Общий замысел**

Программу клинической разработки гуселькумаба для лечения болезни Крона будут проводить в соответствии с этим единым протоколом: фаза 2/3, рандомизированное двойное слепое исследование с плацебо-контролем и активным контролем (устекинумаб), наличие параллельной группы, многоцентровый протокол

для оценки безопасности и эффективность гуселькумаба у участников с болезнью Крона умеренного или тяжелого течения, которые продемонстрировали неадекватный ответ или непереносимость предшествующей традиционной терапии или биологической терапии.

5 Обзор этой программы клинических исследований вкратце представлен ниже. В рамках этого протокола предусмотрено 3 отдельных исследования: 48-недельная фаза 2 исследования диапазона доз в (т. е. GALAXI 1) и 2 идентичных 48-недельных подтверждающих исследований на фазе 3 (т. е. GALAXI 2 и GALAXI 3). Все 3 исследования будут проводить с использованием схемы лечения на протяжении всего исследования, т. е. участников на неделе 0 рандомизируют по схемам лечения, и они останутся на этой схеме лечения по меньшей мере в течение 48 недель каждого исследования, если не указано иное.

15 На фазе 2 исследования диапазона доз (т. е. GALAXI 1) будут оценивать безопасность и эффективность схем дозирования гуселькумаба, охватывающих широкий диапазон начальных и поддерживающих доз, чтобы обосновать схемы дозирования начальных и поддерживающих доз, выбор которых будет определяться на фазе 3 подтверждающего исследования. По оценкам для выбора схем дозирования, которые будут оцениваться на фазе 3 (GALAXI 2 и GALAXI 3), могут потребоваться от 250 до 500 участников. Таким образом, первые 250 участников GALAXI 1 будут включены в когорту для принятия решения о величине начальной дозы; промежуточный анализ (ПА), в первую очередь основанный на этой когорте, будут проводить после того, как эти участники достигнут недели 12 лечения (или прекратят участие в исследовании до недели 12). Поскольку для обоснования решения о величине дозы могут потребоваться данные от большего количества участников, регистрация будет продолжена, а новые зарегистрированные участники (т. е. начиная с участника № 251) будут рандомизированы в переходную когорту, в то время как будут собирать и анализировать данные от первоначальной когорты для принятия решения о величине начальной дозы. Назначение переходной когорты будет заключаться в продолжении сбора данных на фазе 2 о безопасности и эффективности схем дозирования без прерывания исследования, тем самым это увеличит размер общей базы данных по безопасности, а также, возможно, предоставит дополнительную информацию при принятии решения о дозировке в случае отсутствия уверенности в отношении выбора величины дозы на основании результатов от первоначальной когорты по решению о величине дозы. Ожидается, что до принятия решения о величине дозы в GALAXI 1

будет зачислено до 500 участников (т. е. 250 в первоначальной когорте для принятия решения о величине дозы и до 250 в переходной когорте). Если решение о величине дозы на фазе 3 исследования не будет принято к моменту рандомизации 500-го пациента, регистрация будет приостановлена до тех пор, пока не будет принято решение о дозировании на фазе 3 исследования или решение о прекращении программы разработки.

Данный протокол представляет собой протокол с непрерывными переходами между фазами, т. е. между фазой 2 и фазой 3 исследования не будет перерыва в регистрации, если решение о величине дозе может быть принято до рандомизации 500 пациентов. Переход от фазы 2 к фазе 3 данного протокола произойдет после того, как будет принято и реализовано решение о величине дозы для фазы 3. Исследования фазы 3 будут включать в себя всех участников, рандомизированных после принятия решения о величине дозы.

В исследованиях фазы 3 по подтверждению дозирования (т. е. GALAXI 2 и GALAXI 3) будут оценивать безопасность и эффективность выбранных схем введения гуселькумаба. В каждое из исследований фазы 3 будет включено 770 участников, а общая величина целевой выборки составит 1540 участников на фазе 3 данного протокола.

Участники, завершившие 48-недельные исследования фазы 2 или фазы 3, могут получить право на участие в долгосрочных исследованиях (LTE), чтобы получить примерно 2 дополнительных года лечения.

Общий протокол GALAXI фазы 2 и 3 привлечет в общей сложности около 2000 участников, каждый из которых будет занят в исследовании в общей сложности примерно до 3 лет.

Целевая популяция

Целевая популяция во всех 3 исследованиях по этому протоколу будет идентичной и будет состоять из мужчин или женщин в возрасте ≥ 18 лет на момент получения информированного согласия, с болезнью Крона умеренного или тяжелого течения (длительностью по меньшей мере 3 месяца). У участников должен быть колит, илеит или илеоколит, ранее подтвержденный рентгенографией, гистологическим анализом и/или эндоскопией.

Критерии активного заболевания

На исходном уровне у участников должна быть активная болезнь Крона, определяемая следующим образом:

Клинически активная болезнь Крона

а. Показатель CDAI \geq 220 баллов, но \leq 450 баллов

И ЛИБО

б. Среднесуточное количество стула (SF) $>$ 3, на основе невзвешенного компонента

5 CDAI количества жидкого или очень мягкого стула

ИЛИ

в. Среднесуточное количество болей в области живота (AP) $>$ 1, на основе невзвешенного компонента CDAI боли в области живота

И

10 **2. Эндоскопические признаки илеоколонической болезни Крона**

Оценка по шкале SES-CD \geq 3 балла на основе централизованной оценки эндоскопической картины, полученной при проведении эндоскопического скрининга, что указывает на наличие по меньшей мере одной большой язвы (в подвздошной, толстой кишке или в обеих), что приводит к:

15 а. минимум 2 баллам по компоненту «размер язв»

И

б. минимум 1 баллу по компоненту «изъязвленная поверхность»

В каждом из исследований не более 10% от общей включенной популяции будут участниками, имеющими исходные баллы по шкале SES-CD $<$ 4 (т. е. участниками с изолированным заболеванием подвздошной кишки) или SES-CD $<$ 7 (т. е. участниками с болезнью ободочной кишки или с заболеванием подвздошно-ободочного участка кишечника).

20

Критерии медицинского анамнеза

Дополнительно в этом протоколе будут оценивать большую популяцию участников, подходящих для системной терапии, которая будет включать участников, продемонстрировавших неадекватный ответ или непереносимость при предшествующей традиционной терапии или биологической терапии.

25

Следует отметить, что участники, которые ранее подвергались лечению с помощью ИЛ-12/23 или ИЛ-23, не имеют права участвовать в этом протоколе, за исключением участников, которые ограниченно принимали устекинумаб и не продемонстрировали неэффективность или непереносимость устекинумаба.

30

• Неэффективность или непереносимость традиционной терапии (CON-Failure)

Участники должны были продемонстрировать неадекватный ответ или непереносимость к по меньшей мере одному из следующих традиционных методов

лечения болезни Крона: перорально вводимые кортикостероиды (включая преднизолон, будесонид и беклометазона дипропионат) или иммуномодуляторы азатиоприн (AZA), 6-меркаптопурин (6-MP) или метотрексат (MTX). Участники, которые продемонстрировали зависимость от кортикостероидов (т. е. неспособность успешно снижать дозу кортикостероидов без возвращения симптомов болезни Крона), также имеют право на участие. Участники могут не подвергаться биологической терапии (например, антагонисты ФНО, или ведолизумаб, или устекинумаб) или могли подвергаться биологической терапии, но не продемонстрировать неадекватного ответа или непереносимости к ней.

10 В каждом из исследований не менее 25% и не более 50% от общего числа зачисленных участников будут участниками, которые продемонстрировали неэффективность или непереносимость к традиционной терапии (CON-Failure).

• **Неэффективность или непереносимость биологической терапии (BIO-Failure)**

15 Участники должны были продемонстрировать неадекватный ответ или непереносимость к по меньшей мере 1 или более биологических препаратам (например, антагонистам ФНО или ведолизумабу) в дозе, одобренной для лечения болезни Крона. Неадекватный ответ определяют следующим образом. Первичное отсутствие ответа (т. е. отсутствие исходного ответа) или вторичное отсутствие ответа (т. е. первоначальный ответ есть, но впоследствии он исчезает). Участники, которые продемонстрировали неадекватный ответ или непереносимость устекинумаба, не имеют права на участие.

20 Применение сопроводительной терапии и запрещенных препаратов описано ниже. Как правило, в сопроводительной терапии нужно придерживаться стабильной дозировки (за исключением снижения дозы стероидов), а также не следует начинать новую сопроводительную терапию, если только исследователь не посчитает это необходимым с медицинской точки зрения. Дозы кортикостероидов будут снижаться, начиная с недели 12. В случае приема запрещенных препаратов — прекращение использования исследуемого вмешательства (SID). Наконец, в случае стойкого неадекватного ответа или клинически значимого ухудшения болезни Крона настоятельно рекомендуется рассмотреть вопрос об исключении пациента из исследования.

Оценки

30 На протяжении 3 исследований эффективность, ФК, биомаркеры и безопасность будут оценивать в моменты времени, указанные в соответствующем графике мероприятий.

Образец крови для фармакогеномного исследования будет взят у участников, которые подписали согласие для прохождения этого исследования согласно протоколу (в случаях, когда это позволяют местные нормативные требования). Участие в фармакогеномном исследовании является необязательным. Образцы

5 дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК) будут проанализированы для выявления генетических факторов, которые могут быть связаны с клиническим ответом.

Безопасность участников в 3 исследованиях будут оценивать внешним независимым ДМС (комитетом по мониторингу данных), за которым будут закреплены определенная роль и обязанности в соответствии с уставом ДМС. Первоначальная
10 ответственность ДМС будет заключаться в тщательном рассмотрении данных о безопасности первых 25 участников, рандомизированных и подвергнутых лечению в рамках GALAXI 1. После этого будут продолжены текущие обзоры данных о безопасности, как указано в уставе ДМС. После каждого обзора ДМС будет давать рекомендации спонсору по продолжению исследований.

15 **Фаза 2 исследования диапазона доз (GALAXI 1)**

Обзор структуры фазы 2 исследования и решения по утверждению величины дозы препарата на фазе 3 исследования

На неделе 0 участники будут рандомизированы в соотношении 1 : 1 : 1 : 1 : 1 для получения 1 из 3 схем введения гуселькумаба, устекинумаба или плацебо. Участники
20 будут распределены в экспериментальные группы с использованием рандомизации блоков с перестановками с исходной оценкой показателя CDAI (≤ 300 баллов или > 300 баллов) и предшествующим статусом BIO-Failure (Да/Нет) в качестве переменных стратификации. В каждом из исследований не менее 25% и не более 50% от общего числа зачисленных участников будут участниками, которые продемонстрировали
25 неэффективность или непереносимость традиционной терапии (CON-Failure). Кроме того, в каждом из исследований не более 10% от общей включенной популяции будут участниками, имеющими исходные оценки по шкале SES-CD < 4 баллов (т. е. участниками с изолированным заболеванием подвздошной кишки) или SES-CD < 7
30 баллов (т. е. участниками с болезнью ободочной кишки или с заболеванием подвздошно-ободочного участка кишечника). Распределение по экспериментальным группам будет осуществляться с использованием центра по центральной рандомизации с помощью интерактивной системы веб-ответов (IWRS).

Ожидается, что до принятия решения о величине дозы в GALAXI 1 будет зачислено до 500 участников (т. е. 250 в первоначальной когорте для принятия решения

о величине дозы и до 250 в переходной когорте) для фазы 3 исследования). Если решение о величине дозы на фазе 3 исследования не будет принято к моменту рандомизации 500-го пациента, регистрация будет приостановлена до тех пор, пока не будет принято решение о дозировании на фазе 3 исследования или решение о прекращении программы разработки.

Проведение промежуточных анализов планируется на неделе 12 (и, при необходимости, неделе 24) после того, как все участники из первоначальной когорты для принятия решения о начальной дозе либо завершили посещение на неделе 12 (или неделе 24), либо прервали участие в исследовании до посещения на неделе 12 (или неделе 24), для принятия решения о величине дозы для фазы 3 исследования. Во время каждой фазы IA будут проанализированы все доступные данные как от когорты для принятия решения о величине начальной дозы, так и от переходной когорты, включая любые данные после недели 12. Дополнительные передачи данных и проведение анализов могут быть выполнены в другие моменты времени, если это необходимо для принятия решения о величине дозы для фазы 3 исследования. Цель заключается в том, чтобы выбрать 2 схемы введения гуселькумаба для подтверждающей оценки на фазе 3 исследования.

Группы лечения

Ниже представлен обзор 5 экспериментальных групп и соответствующих им схем дозирования с недели 0 и до недели 48 в рамках фазы 2 исследования.

Схемы дозирования для 5 экспериментальных групп с недели 0-и до 48 недели на фазе 2 (т. е. GALAXI 1)

Каждый участник исследования фазы 2 (т. е. первоначальной когорты для принятия решения о величине начальной дозы и переходной когорты) будет рандомизирован в 1 из 5 экспериментальных групп, как описано ниже. Участники будут получать лечение по назначенным им схемам до конца 48-недельного исследования, за исключением группы, получающей плацебо, как указано ниже.

Группа 1. Схема 1 с гуселькумабом (1200 мг в/в 1 р/4 нед х 3 → 200 мг подкожно 1 р/ 4 нед)

Участники будут получать гуселькумаб в начальной дозе 1200 мг в/в 1 р/4 нед, в период с недели 0 и до недели 8 (т. е. всего 3 дозы в/в). На неделе 12 участники

продолжат лечение с помощью подкожного введения поддерживающей дозы гуселькумаба в 200 мг 1 р/4 нед до недели 44.

Группа 2. Схема 2 с гуселькумабом (600 мг в/в 1 р/4 нед x 3 → 200 мг подкожно 1 р/4 нед)

5 Участники будут получать гуселькумаб в начальной дозе 600 мг в/в 1 р/4 нед, в период с недели 0 и до недели 8 (т. е. всего 3 дозы в/в). На неделе 12 участники продолжают лечение с помощью подкожного введения поддерживающей дозы гуселькумаба в 200 мг 1 р/4 нед до недели 44.

10 **Группа 3. Схема 3 с гуселькумабом (200 мг в/в 1 р/4 нед x 3 → 100 мг подкожно 1 р/8 нед)**

Участники будут получать гуселькумаб в начальной дозе 200 мг в/в 1 р/4 нед, в период с недели 0 и до недели 8 (т. е. всего 3 дозы в/в). На неделе 16 участники продолжают лечение с помощью подкожного введения поддерживающей дозы гуселькумаба в 100 мг 1 р/8 нед до недели 40.

15 **Группа 4. Активный контроль, устекинумаб (~ 6 мг/кг в/в → 90 мг подкожно 1 р/8 нед)**

20 Участники получают однократную начальную дозу устекинумаба в/в на неделе 0 (дозозависимая доза в/в, приблизительно 6 мг/кг, как указано ниже). На неделе 8 участники будут получать поддерживающую дозу устекинумаба подкожно (90 мг подкожно 1 р/8 нед) до недели 40.

- Устекинумаб 260 мг (масса тела \leq 55 кг)
- Устекинумаб 390 мг (масса тела $>$ 55 кг и \leq 85 кг)
- Устекинумаб 520 мг (масса тела $>$ 85 кг)

Группа 5. Плацебо → плацебо или переход на прием устекинумаба

25 Участники будут получать плацебо в/в 1 р/4 нед в период с недели 0 и до недели 8 (т. е. всего 3 дозы в/в). На неделе 12 участники продолжают лечение в зависимости от их клинического ответа следующим образом:

- **Пациенты, ответившие на лечение с плацебо:** продолжают лечение с введением плацебо 1 р/4 нед в период с недели 12 и до недели 44.
- 30 • **Пациенты, не ответившие на лечение с плацебо:** получают однократную начальную дозу устекинумаба в/в на неделе 12 (зависимые от веса пациента дозы в/в, приблизительно 6 мг/кг, как указано выше). На неделе 20 участники будут получать поддерживающую дозу устекинумаба подкожно (90 мг подкожно 1 р/8 нед) до недели 44.

Клинический ответ определяют как снижение показателя CDAI по сравнению с исходным уровнем (т. е. на неделе 0) на ≥ 100 баллов или достижение клинической ремиссии (CDAI < 150 баллов). В рамках слепого метода исследования участников всех экспериментальных групп будут оценивать по статусу их клинического ответа на

5 неделе 12. Кроме того, для сохранения слепого метода на протяжении всего исследования при необходимости будет вводиться плацебо (в/в или подкожно (п/к)). Никаких корректировок дозировки не планируется ни для одной из экспериментальных групп в период с недели 0 и до недели 48, за исключением группы 5 (плацебо), у

10 которой на неделе 12 могут вноситься изменения на основе статуса клинического ответа, как описано выше.

Применение сопроводительной терапии и запрещенных препаратов описано ниже. Как правило, в сопроводительной терапии нужно придерживаться стабильной дозировки (за исключением снижения дозы стероидов), а также не следует начинать

15 принимать новые препараты сопроводительной терапии, если только исследователь не посчитает это необходимым с медицинской точки зрения. Дозы кортикостероидов будут снижаться, начиная с недели 12. В случае приема запрещенных препаратов пациент будет исключен из исследования. Наконец, в случае стойкого неадекватного

20 ответа или клинически значимого ухудшения болезни Крона настоятельно рекомендуется рассмотреть вопрос об исключении пациента из исследования.

Все участники, прошедшие обследование на неделе 48, могут получить право на участие в долгосрочном расширенном исследовании (LTE) и продолжать получать препарат в рамках исследования в течение еще примерно 2 лет (в период с 48 и до 156

25 недели).

Конечные показатели и оценки

Первичным конечным показателем является изменение показателя CDAI на

30 неделе 12 относительно исходного уровня. Главными вторичными конечными показателями являются: клиническая ремиссия на неделе 12, клинический ответ на неделе 12, ремиссия PRO-2 на неделе 12, ответ на лечение на неделе 12, определенный по данным эндоскопии, и ответ по клиническим показателям и биомаркерам на неделе

12. Анализ этих конечных показателей будет основан на сравнении каждой группы, получающей гуселькумаб, с группой, получающей плацебо. Будет также проведен дополнительный анализ конечных показателей в другие моменты времени, включая сравнение гуселькумаба с устекинумабом на неделе 48.

Будут оценивать эффективность, параметры фармакокинетики (ФК) и фармакодиагностики (ФД), биомаркеры и безопасность.

Блокировки базы данных (DBL) запланированы на неделе 12 и неделе 48. При необходимости могут быть добавлены дополнительные DBL (например, на неделе 24).

5 **Исследования фазы 3 по подтверждению дозирования (GALAXI 2 и GALAXI 3)** **Обзор схемы фазы 3 исследования**

На неделе 0 1540 целевых участников будут случайным образом распределены по группам в исследованиях GALAXI 2 (n = 770) или GALAXI 3 (n = 770) с использованием метода рандомизации блоков с перестановками, с исходным показателем CDAI (≤ 300 баллов или > 300 баллов), исходной величиной по шкале SES-CD (≤ 12 или > 12), предшествующим статусом BIO-Failure (Да/Нет) и исходным применением кортикостероидов (Да/Нет) в качестве переменных стратификации. Внутри каждой страты участники в каждом исследовании будут рандомизированы в соотношении 2 : 2 : 2 : 1 для получения 1 из 2 схем введения гуселькумаба, устекинумаба или плацебо. В каждом из исследований (GALAXI 2 и GALAXI 3) не менее 25% и не более 50% от общего числа зачисленных участников будут участниками, которые продемонстрировали неэффективность или непереносимость традиционной терапии (CON-Failure). Кроме того, не более 10% от общего количества зарегистрированных участников будут иметь исходные баллы по шкале SES-CD < 4 (т. е. участники с изолированным заболеванием подвздошной кишки) или SES-CD < 7 (т. е. участники с болезнью ободочной кишки или с заболеванием подвздошно-ободочного участка кишечника). Распределение по экспериментальным группам будет осуществляться с использованием центра по центральной рандомизации с помощью системы IWRS.

25 **Группы**

Схемы дозирования гуселькумаба будут выбраны на фазе 3 на основе эффективности и безопасности диапазона начальных доз (т. е. от 200 мг до 1200 мг в/в) и диапазона поддерживающих доз (т. е. от 100 мг п/к 1 р/8 нед до 200 п/к 1 р/4 нед), оцененных в исследовании фазы 2.

30 На основании данных фазы 2 будут выбраны 2 схемы введения гуселькумаба (т. е. введение в/в начальной дозы → введение п/к поддерживающей дозы) для подтверждающей оценки на фазе 3. Идентичные схемы введения должны оцениваться в обоих исследованиях фазы 3.

Обзоры 4 экспериментальных групп в 2 исследованиях фазы 3 и соответствующих им схем дозирования в период с недели 0 и до недели 48 кратко изложены ниже. Участники будут получать лечение по назначенным им схемам до конца 48-недельного исследования, за исключением группы, получающей плацебо, как

5 указано ниже.

Схемы дозирования для 4 экспериментальных групп в период с недели 0 до недели 48 в исследованиях фазы 3 (т. е. GALAXI 2 и GALAXI 3)

Группа 1 и группа 2. Схема 1 с гуселькумабом и схема 2 с гуселькумабом

Участники будут получать гуселькумаб в/в в начальной дозе 1 р/4 нед, в период

10 с недели 0 и до недели 8 (т. е. всего 3 дозы в/в). В зависимости от того, вводится ли выбранная поддерживающая доза подкожно 1 р/4 нед и/или 1 р/ 8 нед, участники будут продолжать получать поддерживающие дозы гуселькумаба п/к, в период с недели 12 и до недели 44 (т. е. схема 1 р/4 нед) или в период с недели 16 и до недели 40 (т. е. схема 1 р/8 нед).

Группа 3. Активный контроль — устекинумаб (~ 6 мг/кг в/в → 90 мг п/к 1 р/8 нед)

Участники получают однократную начальную дозу устекинумаба в/в на неделе 0 (зависимая от массы пациента доза в/в, приблизительно 6 мг/кг, как указано ниже). На

15 неделе 8 участники будут получать поддерживающую дозу устекинумаба подкожно (90 мг подкожно 1 р/8 нед) до недели 40.

- 20 • Устекинумаб 260 мг (масса тела \leq 55 кг)
- Устекинумаб 390 мг (масса тела $>$ 55 кг и \leq 85 кг)
- Устекинумаб 520 мг (масса тела $>$ 85 кг)

Группа 4. Плацебо → плацебо или переход на прием устекинумаба

Участники будут получать плацебо в/в 1 р/4 нед в период с недели 0 и до недели 8 (т. е.

25 всего 3 дозы в/в). На неделе 12 участники продолжат лечение в зависимости от их клинического ответа следующим образом:

- **Пациенты, ответившие на лечение с плацебо:** продолжают получать плацебо с

30 недели 12 и до недели 44.

- **Пациенты, не ответившие на лечение с плацебо:** получают однократную начальную

30 дозу устекинумаба в/в на неделе 12 (зависимые от веса пациента дозы в/в, приблизительно 6 мг/кг, как указано выше). На неделе 20 участники будут получать поддерживающую дозу устекинумаба подкожно (90 мг подкожно 1 р/8 нед) до недели 44.

Клинический ответ определяют как снижение показателя CDAI по сравнению с исходным уровнем (т. е. на неделе 0) на ≥ 100 баллов или достижение клинической ремиссии (CDAI < 150 баллов). В рамках слепого метода исследования участников всех экспериментальных групп будут оценивать по статусу их клинического ответа на

5 неделе 12.

Кроме того, для сохранения слепого метода на протяжении всего исследования при необходимости будет вводиться плацебо (в/в или подкожно (п/к)). Никаких корректировок дозировки не планируется ни для одной из экспериментальных групп в период с недели 0 и до недели 48, за исключением группы 4 (плацебо), у которой на

10 неделе 12 могут вноситься изменения на основе статуса клинического ответа, как описано выше.

Применение сопроводительной терапии и запрещенных препаратов описано ниже. Как правило, при сопроводительной терапии нужно придерживаться стабильной дозировки (за исключением снижения дозы стероидов), и не следует начинать

15 принимать новые препараты сопроводительной терапии, если только исследователь не посчитает это необходимым с медицинской точки зрения. Дозы кортикостероидов будут снижаться, начиная с недели 12. В случае приема запрещенных препаратов пациент будет исключен из исследования. Наконец, в случае стойкого неадекватного ответа или клинически значимого ухудшения болезни Крона настоятельно

20 рекомендуется рассмотреть вопрос об исключении пациента из исследования.

Все участники, прошедшие обследование на неделе 48, могут получить право на участие в LTE и продолжать получать лечение в течение еще примерно 2 лет.

Конечные показатели и оценки

GALAXI 2 и GALAXI 3 имеют одни и те же основной и главные вторичные конечные

25 показатели.

Основным конечным показателем является клиническая ремиссия, достигнутая на неделе 12, определяемая на сравнении гуселькумаба и плацебо. Главные вторичные конечные показатели: клиническая ремиссия на неделе 48, стойкая клиническая ремиссия на неделе 48, клиническая ремиссия без кортикостероидов на неделе 48,

30 ремиссия PRO-2 на неделе 48 и ответ на лечение, определенный по данным эндоскопии, на неделе 48 — определяются на сравнении гуселькумаба и устекиномаба. Главные вторичные конечные показатели: ремиссия PRO-2 на неделе 12, ответ на лечение, определенный по данным эндоскопии, на неделе 12 и реакция на усталость на

неделе 12 — основаны на сравнении между каждой экспериментальной группой, получающей гуселькумаб, и группой, получающей плацебо.

Будут оценивать эффективность, параметры фармакокинетики (ФК) и фармакодиагностики (ФД), биомаркеры и безопасность.

- 5 Осуществление DBL запланировано на неделю 48. При необходимости могут быть добавлены дополнительные DBL, которые будут указаны в SAP.

Долгосрочная расширенная фаза

LTE будет проводиться примерно 2 года, в период с недели 48 и до недели 156.

- 10 На неделе 48 исследований GALAXI 1, GALAXI 2 или GALAXI 3 все участники, которые, по мнению исследователя, продолжают получать пользу от лечения (т. е. определяться это будет по клиническим данным и данным эндоскопии на неделе 48), получают право участвовать в LTE, т. е. получают примерно 2 дополнительных года лечения, в течение которых будут оценивать более долгосрочную эффективность и безопасность гуселькумаба. Будут оценивать состояние всех участников. Последнее посещение участниками врача для оценки конечной эффективности и безопасности лечения (FES) в рамках LTE произойдет примерно на неделе 156 (т. е. примерно через 16 недель после последнего введения исследуемого препарата на неделе 140).

- 20 Участники, которые не имеют права записаться в LTE на неделе 48, должны посетить врача для оценки FES через 16 недель после последнего введения исследуемого препарата.

- 25 Во время прохождения LTE все участники будут продолжать придерживаться той же схемы лечения (т. е. введение гуселькумаба, устекинумаба или плацебо), которую они получали в конце GALAXI 1, GALAXI 2 или GALAXI 3. Первое введение исследуемого препарата во время прохождения LTE произойдет на неделе 48, а последнее введение исследуемого препарата произойдет на неделе 140. Коррекция лечения при неадекватном ответе допускается между неделями 52 и неделями 80 LTE.

- 30 Начиная с недели 48, по усмотрению исследователя и участника, а также после соответствующего и задокументированного обучения участники могут самостоятельно вводить исследуемый препарат в исследовательском центре. Лицо, осуществляющее уход за участником, также можно обучить введению исследуемого препарата. После прохождения обучения на неделе 48 участники, которые имеют право на самостоятельное (или с помощью лица, осуществляющего уход за участником) введение исследуемого препарата, получают исследуемый препарат для его введения на дому и осуществляют первое введение препарата на дому на неделе 52. Участникам,

которые не могут или не хотят, чтобы введение исследуемого препарата осуществлялось за пределами исследовательского центра, будут продолжать вводить данный препарат в исследовательском центре.

Во время LTE все участники будут продолжать получать активный исследуемый препарат или плацебо слепым методом до раскрытия информации слепого исследования, которое произойдет после DBL на неделе 48 и завершения анализов на неделе 48 для исследования фазы 2 (для участников, вступающих в LTE из GALAXI 1) или для исследований фазы 3 (для участников, вступающих в LTE из GALAXI 2 или GALAXI 3).

После раскрытия информации слепого исследования все участники, получающие активный препарат (т. е. гуселькумаб или устекинумаб), будут продолжать получать назначенный им активный препарат в течение оставшейся времени LTE до недели 140. Участники, получающие плацебо, будут исключены из дальнейшего эксперимента после раскрытия информации слепого исследования, и в это время им будет назначено посещение для оценки FES.

Коррекция лечения при неадекватном ответе

Участники из всех экспериментальных групп (т. е. получавших гуселькумаб, устекинумаб и плацебо), которые соответствуют критериям неадекватного ответа между неделями 52 (т. е. первым посещением врача, при котором разрешена корректировка лечения) и неделями 80 (т. е. последним посещением врача, при котором разрешена корректировка лечения), будут иметь право на однократную корректировку лечения (т. е. после первого обнаружения критериев неадекватного ответа).

Неадекватный ответ представляет собой отсутствие клинического ответа И наличие по меньшей мере 220 баллов по шкале CDAI. Клинический ответ определяют как снижение показателя CDAI по сравнению с исходным уровнем (т. е. на неделе 0) на ≥ 100 баллов или достижение клинической ремиссии ($CDAI < 150$ баллов).

Участники (которые получают плацебо, устекинумаб или более низкую поддерживающую дозу гуселькумаба п/к) будут иметь право на однократную слепую коррекцию лечения в виде максимальной поддерживающей дозы гуселькумаба п/к, как определено в протоколе исследования фазы 2 или фазы 3, в которых принимают участие данные пациенты. Участники, которые уже получают самую высокую поддерживающую дозу гуселькумаба п/к, получают однократную слепую корректировку в виде фиктивного лечения. Участники, получившие корректировку лечения, останутся на своей новой схеме лечения до недели 92.

На неделе 96 будут оценивать пользу от корректировки лечения. Решение о продолжении участия в оставшейся части LTE будет принято на основании клинической оценки исследователя клинических результатов и данных эндоскопии на неделе 96. Следует рассмотреть вопрос о прекращении экспериментального лечения у участников со стойким неудовлетворительным ответом или клинически значимым ухудшением болезни Крона, если продолжение экспериментального лечения не отвечает интересам данных участников.

Конечные показатели и оценки

В течение недели 156 будут оценивать долгосрочную эффективность и безопасность гуселькумаба. Кроме того, пользу от корректировки лечения будут оценивать на основе описательного анализа различных конечных показателей эффективности (должны быть указаны в SAP).

Блокировка базы данных запланирована на неделе 96 и после последнего посещения последнего участника для оценки конечной эффективности и безопасности проведенного во время LTE лечения. При необходимости могут быть добавлены дополнительные DBL, что будет указано на фазе 3 SAP.

Применение плацебо- и активного контроля

Включение как плацебо-, так и активного контролей в один и тот же протокол имеет несколько преимуществ. Плацебо-контроль в краткосрочном периоде облегчает оценку краткосрочной эффективности и безопасности нового лечения по сравнению с плацебо в период времени, в течение которого использование плацебо у участников с активным заболеванием считается клинически приемлемым для поддержки научных исследований. При более длительном лечении использование в качестве контроля активного вещества для сравнения может помочь в случае сомнений в приемлемости длительного использования плацебо, а также может дать возможность оценить сравнительную эффективность и безопасность препаратов в условиях рандомизированного контролируемого исследования. Существует значительная клиническая ценность определения того, принесет ли новый вариант лечения аналогичную или большую пользу пациентам по сравнению с одобренным вариантом лечения.

Устекинумаб был выбран в качестве активного препарата сравнения, потому что у него сходный механизм действия (т. е. блокада ИЛ-12/23), а доклинические данные свидетельствуют о возможности повышения эффективности за счет более специфического нацеливания на ИЛ-23. Кроме того, предлагаемая дозировка

устекинумаба в данном протоколе предусматривает схему с самыми высокими одобренными в настоящее время начальной и поддерживающей дозами, причем данная схема была одной из схем дозирования, оцененных на фазе 3 программы клинической разработки устекинумаба для лечения болезни Крона. Таким образом, включение в эту программу устекинумаба в качестве активного препарата сравнения обеспечит ценный и актуальный ориентир для сравнения с гуселькумабом.

Устекинумаб включен в качестве активного эталона в исследование фазы 2 для сбора данных, которые позволят определить уровень эффективности лечения и предположительный размер выборки для исследований фазы 3. Устекинумаб включен в 2 исследования фазы 3 в качестве активного эталонного препарата сравнения, чтобы в рандомизированном контролируемом исследовании можно было оценить долгосрочную эффективность и безопасность 2 схем введения гуселькумаба по сравнению с устекинумабом в течение приблизительно 1 года (т. е. 48 недель) лечения. Важной целью этой программы развития является определение того, превосходит ли эффективность гуселькумаба эффективность устекинумаба (или, как минимум, не уступает ей) в достижении долгосрочной клинической ремиссии.

Сообщаемый пациентом результат по связанному со здоровьем качеству жизни

Оценки сообщаемого пациентом результата (PRO) (т. е. IBDQ, PROMIS-29, краткая форма PROMIS Fatigue из 7 пунктов, 5-уровневый инструмент для измерений EuroQol 5 [EQ-5D-5L]) будут использовать для определения преимуществ лечения гуселькумабом для качества жизни, связанного с облегчением течения болезни и в общем со здоровьем (HRQOL).

Фаза 2 исследования диапазона доз (GALAXI 1)

Следующие схемы введения гуселькумаба будут оценивать до недели 48 GALAXI 1.

- **Схема 1 с гуселькумабом** — начальная: 1200 мг в/в на неделях 0, 4 и 8; с последующим введением поддерживающей дозы: 200 мг п/к 1 р/4 нед (т. е. на неделях 12, 16, 20, 24, 28, 32, 36, 40 и 44)
- **Схема 2 с гуселькумабом** — начальная: 600 мг в/в на неделях 0, 4 и 8; с последующим введением поддерживающей дозы: 200 мг п/к 1 р/4 нед (т. е. на неделях 12, 16, 20, 24, 28, 32, 36, 40 и 44)
- **Схема 3 с гуселькумабом** — начальная: 200 мг в/в на неделях 0, 4 и 8; с последующим введением поддерживающей дозы: 100 мг п/к 1 р/8 нед (т. е. на неделях 16, 24, 32 и 40)

Схемы введения начальной дозы

Перекрестные сравнения между исследованиями фазы 2, в которых пациентам с
бляшковидным псориазом предоставляли лечение гуселькумабом и рисанкизумабом,
позволяют предположить, что сопоставимая эффективность была достигнута при почти
5 одинаковых схемах введения. Данные мета-анализа на основе моделей также
позволяют предполагать сопоставимую клиническую эффективность этих 2
соединений. Кроме того, было обнаружено, что ФК гуселькумаба аналогична ФК
рисанкизумаба. Эти данные по дозозависимому ответу и ФК позволяют предположить,
10 что сопоставимые уровни блокады ИЛ-23 и эффективность лечения при болезни Крона
могут быть достигнуты при аналогичных схемах введения или системном применении
этих 2 соединений. Кроме того, ФК/ФД модель устекинумаба (блокатора ИЛ-12/23),
которая одобрена для лечения болезни Крона, считалась применимой для
прогнозирования эффективности применения различных схем введения гуселькумаба.

На фазе 2 исследования рисанкизумаба у участников с активной болезнью
15 Крона умеренного или тяжелого течения была продемонстрирована дозозависимая
эффективность: большая часть участников, принимавших рисанкизумаб в более
высокой начальной дозе (т. е. 600 мг в/в 1 р/4 нед), достигла ремиссии на неделе 12 по
сравнению с теми, кто получал более низкие дозы (т. е. 200 мг в/в 1 р/4 нед); однако
неясно, была ли в этом исследовании фазы 2 достигнута максимальная эффективность
20 при схеме введения рисанкизумаба в начальной дозе в 600 мг в/в. Дозозависимая
эффективность при применении рисанкизумаба была продемонстрирована дополнительно,
о чем свидетельствует увеличение частоты достижения ремиссии у пациентов, которые
перешли с 200 мг в/в на 600 мг в/в во второй период этого исследования (в период с
недели 12 и до недели 26). На основе этих данных, а также на сопоставимой ФК и
25 клинической эффективности гуселькумаба и рисанкизумаба, а также с учетом
прогнозов по ФК/ФД гуселькумаба при болезни Крона, для исследования диапазона доз
на фазе 2 исследования были назначены схемы введения начальных доз гуселькумаба в
600 мг в/в и 200 мг в/в, причем каждую из этих схем введения применяли на неделе 0, 4
и 8.

30 Кроме того, схема введения с более высокой начальной дозой гуселькумаба
(1200 мг 1 р/4 нед в/в) позволит оценить возможность достижения более высокого
уровня эффективности на неделе 12, чем наблюдаемый при более высокой дозе
рисанкизумаба (т. е. 600 мг в/в), тестируемой на фазе 2 исследования. В целом, 3
схемы введения начальных доз гуселькумаба в/в обеспечивают диапазон дозировок, где

максимальная доза в 6 раз больше минимальной, что, вероятно, приведет к адекватному разделению дозировок и, следовательно, обоснует выбор начальной дозы гуселькумаба на фазе 3 исследования.

5 Что касается безопасности этих более высоких начальных доз гуселькумаба в/в, то максимальные однократные дозы гуселькумаба, в 10 мг/кг, испытанные ранее на ограниченном числе участников на фазе 1 исследования бляшечного псориаза, составили максимум 987 мг. Кроме того, в/в дозы гуселькумаба до 50 мг/кг еженедельно в течение 5 недель и п/к подкожные дозы гуселькумаба до 50 мг/кг еженедельно в течение 24 недель хорошо переносились яванскими макаками и не
10 приводили к каким-либо клиническим или анатомическим побочным эффектам. Эти данные указывают на приемлемый диапазон дозировок между прогнозируемыми схемами введения 1200 мг гуселькумаба в/в и теми схемами введения, которые проверялись в токсикологических исследованиях. Кроме того, рисанкизумаб хорошо переносился при схемах введения до 6 доз по 600 мг в/в 1 р/ 4 нед, т. е. всего 3600 мг в
15 течение 26 недель. Долгосрочное наблюдение за этими участниками до недели 52 не выявило каких-либо серьезных проблем с безопасностью, что подтверждается на основе опубликованных данных. Однако при этом для мониторинга соотношения пользы и риска гуселькумаба будет назначен внешний комитет по мониторингу данных (DMC).

20 **Схемы введения поддерживающих доз**

Относительно дозировки других биологических препаратов при болезни Крона в позологии предполагают, что как только воспалительная нагрузка при заболевании снижается, необходимое воздействие препарата для поддержания эффективности
25 лечения может быть ниже, чем воздействие, достигаемое при введении первых начальных доз.

На фазе 3 исследования устекинумаба для лечения болезни Крона было обнаружено, что у участников, которые находились в ремиссии на неделе 8 после применения схемы введения начальных доз ~6 мг/кг в/в, схема введения поддерживающих доз в 90 мг п/к 1 р/8 нед привела к тому, что 67% субъектов
30 сохранили ремиссию на неделе 52. На фазе 2 исследования рисанкизумаба для лечения болезни Крона было обнаружено, что у участников, которые находились в ремиссии на неделе 26 после применения схемы введения начальных доз в 600 мг в/в 1 р/4 нед в течение 6 месяцев, неконтролируемые данные за долгосрочный период показали, что

схема введения 180 мг п/к 1 р/8 нед приводила к тому, что 71% пациентов сохраняли ремиссию на неделе 52.

Соответственно, в этом протоколе предусмотрено, что после 12 недель лечения с помощью начальных доз гуселькумаба в/в далее будут оценивать схемы подкожного введения более низких доз гуселькумаба во время поддерживающего лечения до 5 недели 48. Выбранные схемы введения поддерживающих доз обеспечивают разумные соотношения поддерживающее : начальное воздействие, сравнимые с такими соотношениями у других биологических препаратов, одобренных для применения в лечении болезни Крона.

С помощью схем 1 и 2 оценивают начальные дозы гуселькумаба в 1200 мг в/в 1 р/4 нед и в 600 мг в/в 1 р/4 нед соответственно. Для каждой из этих схем будет изучена схема введения поддерживающих доз в 200 мг п/к 1 р/ 4 нед, чтобы оценить, необходима ли более высокая доза, чем испытанная на фазе 2 исследования рисанкизумаба (т. е. 180 мг п/к 1 р/8 нед), для оптимизации эффективности поддерживающей терапии. 15

Для схемы 3, с помощью которой оценивают введение начальной дозы гуселькумаба в 200 мг в/в 1 р/4 нед, будет изучена схема введения поддерживающей дозы в 100 мг п/к 1 р/8 нед. Ожидается, что схема введения гуселькумаба в дозе 100 мг п/к 1 р/8 нед обеспечит эффективность, по меньшей мере аналогичную или 20 превышающую эффективность, наблюдаемую при применении поддерживающих доз устекинумаба в 90 мг п/к 1 р/8 нед, который в данном исследовании использовали в качестве активного препарата сравнения.

В целом 2 схемы подкожного введения поддерживающих доз гуселькумаба обеспечивают диапазон дозировок, в котором максимальная доза в 4 раза больше 25 минимальной, что должно способствовать обоснованию выбранных величин доз на фазе 3 исследования.

Никаких корректировок лечения не планируется ни для одной из экспериментальной групп в период с недели 0 и до недели 48 GALAXI 1, за исключением тех, кто продемонстрировал отсутствие ответа на в/в введение начальных 30 доз плацебо, которые перейдут на оцениваемую в этом исследовании схему введения устекинумаба (т. е. ~6 мг/кг в/в на неделе 12 с последующим введением 90 мг п/к 1 р/8 нед, начиная с недели 20). Участники, рандомизированные для получения плацебо в/в, которые к неделе 12 продемонстрировали ответ, будут продолжать получать плацебо п/к до недели 44.

Исследования фазы 3 по подтверждению дозирования (GALAXI 2 и GALAXI 3)

На основании данных фазы 2 будут выбраны 2 схемы введения гуселькумаба (т. е. введение в/в начальной дозы → введение п/к поддерживающей дозы) для подтверждающей оценки на фазе 3.

5 Цель заключается в том, чтобы во время принятия решения о величине дозы выбрать схему введения однократной начальной дозы из оцененного диапазона начальных доз (т. е. от 200 мг до 1200 мг в/в 1 р/4 нед на неделе 0, неделе 4 и неделе 8) на фазе 2 исследования диапазона доз на основе совокупных данных об эффективности, безопасности и реакции на воздействие препарата (E-R). Выбор схемы введения
10 однократной начальной дозы, которую будут оценивать на фазе 3 исследования по подтверждению дозирования, основан на том соображении, что для установления оптимальной схемы введения начальной дозы будет доступно достаточное количество информации. В этом сценарии выбранная схема введения начальной дозы будет сочетаться с 2 схемами введения поддерживающих доз, выбранными из диапазона
15 дозирования, состоящего из схем введения гуселькумаба п/к, оцененных на фазе 2 (т. е. от 100 мг 1 р/8 нед до 200 мг 1 р/4 нед).

Кроме того, возможно, что данные фазы 2 исследования могут помочь обосновать выбор более чем одной схемы введения начальной дозы для их оценки на фазе 3. В этом случае каждая выбранная схема введения начальной дозы будет
20 сочетаться с соответствующей схемой введения поддерживающей дозы.

Никаких корректировок лечения не планируется ни для одной из экспериментальной групп в период с недели 0 и до недели 48 в исследованиях GALAXI 2 и GALAXI 3, за исключением тех, кто продемонстрировал отсутствие ответа на в/в введение начальных доз плацебо, которые перейдут на оцениваемую в этом
25 исследовании схему введения устекинумаба (т. е. ~6 мг/кг в/в на неделе 12 с последующим введением 90 мг п/к 1 р/8 нед, начиная с недели 20). Участники, рандомизированные для получения плацебо в/в, которые к неделе 12 продемонстрировали ответ, будут продолжать получать плацебо п/к до недели 44.

Долгосрочная расширенная фаза (в период с недели 48 и до недели 144)

30 Участники продолжают прием назначенной им поддерживающей дозы гуселькумаба во время LTE исследований GALAXI 1, GALAXI 2 и GALAXI 3. Участники, которые продемонстрируют неадекватный ответ в период с недели 52 и до недели 80 при использовании более низкой дозировки, выбранной из 2 схем введения поддерживающих доз, тестируемых в соответствующем исследовании, будут иметь

право на однократную коррекцию дозы и будут получать более высокую поддерживающую дозу до конца LTE периода, чтобы оценить возможность восстановления ими клинического ответа.

Критерии включения

- 5 Для включения в исследование каждый потенциальный участник должен удовлетворять всем приведенным ниже критериям.
1. Быть мужчиной или женщиной (в зависимости от их репродуктивных органов и функций, определяемых хромосомным набором) в возрасте ≥ 18 лет.
 2. Наличие болезни Крона или фистулизирующей болезни Крона продолжительностью по меньшей мере 3 месяца (как минимум 12 недель) с колитом, илеитом или илеоколитом, подтвержденными в любое время в прошлом посредством радиографии, гистологических методов и/или эндоскопии.
 3. Наличие клинически активной болезни Крона, определяемой как исходный показатель CDAI ≥ 220 баллов, но ≤ 450 баллов, и либо:
 - 15 a. среднесуточный показатель SF > 3 , определяемый по невзвешенному компоненту CDAI, количество жидкого или очень мягкого стула;
 - ИЛИ
 - b. среднесуточный показатель AP > 1 , определяемый по невзвешенному компоненту CDAI, боли области в живота.
 - 20 4. Наличие признаков активной илеоколонической болезни Крона, оцененных по шкале SES-CD ≥ 3 баллов на основе централизованной оценки данных эндоскопии, полученных при проведении эндоскопического скрининга, указывает на наличие по меньшей мере 1 большой язвы (в подвздошной, ободочной кишке или в обеих), что приводит к:
 - 25 a. минимум 2 баллам по компоненту «размер язв»
 - И
 - b. минимум 1 баллу по компоненту «изъязвленная поверхность»
- 30 В каждом из исследований не более 10% от общей участвующей в исследовании популяции будут участниками, имеющими исходные баллы по шкале SES-CD < 4 (т. е. участниками с изолированным заболеванием подвздошной кишки) или SES-CD < 7 (т. е. участниками с болезнью ободочной кишки или с заболеванием подвздошно-ободочного участка кишечника).

Прохождение одновременной или предшествующей лекарственной терапии

5. Предыдущее или текущее лечение болезни Крона должно включать по меньшей мере 1 из нижеперечисленного и должно соответствовать дополнительным критериям, как описано в приложении 2 (раздел 10.2), приложении 3 (раздел 10.3) и приложении 4 (раздел 10.4):

а. текущее лечение с помощью перорального приема кортикостероидов (включая будесонид и беклометазона дипропионат) и/или иммуномодуляторов (AZA, 6-MP, MTX);

ИЛИ

б. наличие в анамнезе отсутствия ответа или непереносимость по меньшей мере 1 из следующих видов терапии: пероральный прием кортикостероидов (включая будесонид и беклометазона дипропионат) или иммуномодуляторов (AZA, 6-MP, MTX);

ИЛИ

в. наличие в анамнезе зависимости от кортикостероидов (т. е. неспособность успешно снижать дозу кортикостероидов без возвращения симптомов болезни Крона);

ИЛИ

г. демонстрируемое ранее отсутствие исходного ответа (т. е. первичные нереспондеры), или наличие исходного ответа с последующей его потерей при продолжении терапии (т. е. вторичные нереспондеры), или непереносимость 1 или более биологических агентов в дозах, одобренных для лечения болезни Крона. т. е. инфликсимаба, адалимумаба, цертолизумаба пегол, ведолизумаба или одобренных биоаналогов для этих препаратов).

Примечание. Кроме того, участники, отвечающие критериям 5а-с, могут быть теми, кто не подвергался биологической терапии (например, с использованием антагониста ФНО, ведолизумаба или устекинумаба), или теми, кто подвергался этой биологической терапии, но не продемонстрировал неадекватного ответа или непереносимости к ней. Участники, которые ранее подвергались лечению с помощью агентов к ИЛ-12/23 или агентов к ИЛ-23, не имеют права участвовать в этом исследовании за исключением участников, которые ограниченно принимали устекинумаб в его утвержденной дозировке, указанной в инструкции, **И** соответствуют требуемому критерию вымывания **И** не продемонстрировали неэффективность или непереносимость устекинумаба.

б. Необходимо соблюдать представленные ниже требования к использованию сопутствующих лекарственных средств для лечения болезни Крона. Следующие

лекарственные средства разрешены, при условии, что дозы, соответствующие перечисленным ниже требованиям, являются стабильными или прием их был прекращен до начала исследования в указанные ниже сроки:

- 5 а. соединения 5-аминосалициловой кислоты (5-АСК) для перорального приема в стабильных дозах в течение по меньшей мере 2 недель; или если прием лекарственного средства был недавно прекращен, эта отмена приема должна произойти по меньшей мере за 2 недели до начала исследования;
- 10 б. кортикостероиды для перорального приема в дозе, эквивалентной дозе преднизолона в 40 мг/день или ниже, или 9 мг/день будесонида, или 5 мг/день беклометазона дипропионата, причем дозы должны быть стабильными в течение по меньшей мере 2 недель; или если прием лекарственного средства был недавно прекращен, эта отмена приема должна произойти по меньшей мере за 2 недели до начала исследования;
- 15 в. традиционно используемые иммуномодуляторы (например, AZA, 6-MP или MTX) в течение по меньшей мере 12 недель и в стабильной дозе в течение по меньшей мере 4 недель; или если прием лекарственного средства был недавно прекращен, эта отмена приема должна произойти по меньшей мере за 4 недели до начала исследования;
- 20 д. при приеме антибиотиков в качестве первичного лечения болезни Крона дозы должны быть стабильными в течение по меньшей мере 3 недель; или если прием лекарственного средства был недавно прекращен, эта отмена приема должна произойти по меньшей мере за 3 недели до начала исследования;
- е. при получении энтерального питания в качестве первичного лечения болезни Крона такое лечение должно продолжаться в течение по меньшей мере 2 недель; или если прием лекарственного средства был недавно прекращен, эта отмена приема должна произойти по меньшей мере за 2 недели до начала исследования.

25 **Скрининговые лабораторные тесты**

7. Наличие результатов скрининговых лабораторных тестов в пределах указанных ниже параметров, и если 1 или более лабораторных параметров выходят за пределы указанного диапазона, разрешается однократное повторное лабораторное тестирование показателей в течение приблизительно 5-недельного периода скрининга:

- 30 а. гемоглобин $\geq 8,0$ г/дл;
- б лейкоциты (WBC) $\geq 3,5 \times 10^3$ /мкл;
- в нейтрофилы $\geq 1,5 \times 10^3$ /мкл;
- д. тромбоциты $\geq 100 \times 10^3$ /мкл;
- е. сывороточный креатинин $\leq 1,5$ мг/дл;

f. при проведении теста в лаборатории концентрации аспартатаминотрансферазы (АСТ) и аланинаминотрансферазы (АЛТ) должны быть в 2 или более раза выше верхней границы нормы (ВГН);

g. уровень прямого (конъюгированного) билирубина < 1,0 мг/дл.

5 Туберкулез

8. Считаются пригодными для участия, если соответствуют следующим критериям скрининга на туберкулез (ТВ):

10 a. В анамнезе отсутствует наличие латентного или активного ТВ, обнаруженного перед проведением скрининга. Исключение делается для участников, у которых в анамнезе есть латентный туберкулез И которые удовлетворяют одному из следующих критериев:

- в настоящее время они получают лечение от латентного ТВ,
- планируют начать лечение латентного ТВ до или одновременно с введением первой дозы исследуемого препарата,

ИЛИ

15 • имеют задокументированное свидетельство о завершении соответствующего лечения латентного ТВ в пределах 5 лет до введения первой дозы исследуемого препарата. Исследователь несет ответственность за проверку адекватности предыдущего лечения туберкулеза и предоставление надлежащей документации.

20 b. Отсутствуют признаки или симптомы, указывающие на активный ТВ, при сборе анамнеза и/или физическом осмотре.

25 c. В последнее время не было близкого контакта с человеком с активным ТВ или, при наличии такого контакта, участник будет направлен к врачу, специализирующемуся на ТВ, для дополнительного обследования и, если это необходимо, для проведения надлежащего лечения латентного ТВ перед или одновременно с введением первой дозы исследуемого препарата.

30 d. В пределах 8 недель перед введением первой дозы исследуемого препарата получен отрицательный результат теста QuantiFERON®-TB Gold, либо впервые получен положительный результат теста QuantiFERON®-TB Gold, при этом исключен активный ТВ, и перед введением первой дозы исследуемого препарата начато соответствующее лечение латентного ТВ.

Примечание. Если тест QuantiFERON-TB Gold не одобрен/не зарегистрирован в стране, в которой проводится данный протокол, дополнительно требуется отрицательный

результат по туберкулиновой кожной пробе. Хотя в Украине тест QuantiFERON-TB Gold пока не одобрен/зарегистрирован, он является приемлемым, и дополнительная туберкулиновая кожная проба не требуется. Тест QuantiFERON-TB Gold и туберкулиновая кожная проба не требуются при скрининге участников с латентным ТБ в анамнезе, если активный ТБ был исключен и если было начато/завершено соответствующее лечение, как описано выше в критерии пригодности для включения 8а.

е. Есть рентгенограмма грудной клетки (как в задне-передней, так и в боковой проекциях, или в соответствии с правилами страны, где проходит обследование), сделанная за ≤ 12 недель до введения первой дозы исследуемого препарата и прочитанная квалифицированным радиологом, без признаков текущего, активного ТБ или старого, неактивного ТБ.

Контрацепция

Применение контрацептивов (противозачаточных средств), как мужчинами, так и женщинами, должно соответствовать местным регулятивным нормам, касающимся приемлемых методов контрацепции для лиц, участвующих в клинических исследованиях. Частота несрабатывания контрацептивов при их типичном использовании может отличаться от частоты несрабатывания при их последовательном и правильном использовании. Их использование должно соответствовать местным регулятивным нормам, касающимся использования методов контрацепции для участников клинических исследований.

9. Участница с репродуктивным потенциалом должна иметь отрицательный результат теста мочи на беременность во время скрининга и на исходном уровне исследования.

10. Перед рандомизацией участнице необходимо:

- a. не обладать репродуктивным потенциалом;
- b. обладать репродуктивным потенциалом и:
- c. использовать высокоэффективный способ контрацепции (частота неудач $< 1\%$ в год при постоянном и правильном использовании) и согласиться на продолжение высокоэффективного способа контрацепции во время проведения исследования и в течение 16 недель после введения последней дозы (т. е. до окончания соответствующего системного воздействия); однако выбранный способ должен соответствовать местным/региональным нормам/руководствам по высокоэффективной контрацепции.

Примечание. Если репродуктивный потенциал участницы изменяется после начала исследования (например, у женщины в состоянии пременопаузы наступает состояние менопаузы) или изменяется риск наступления беременности (например, женщина, не являющаяся гетеросексуально активной, становится активной), женщина должна
5 начать использовать высокоэффективный способ контрацепции, как описано в критериях пригодности к включению и критериях исключения из списков участников.

11. Женщина должна согласиться на отказ от донорства яйцеклеток (женских половых клеток, ооцитов) для искусственного оплодотворения во время исследования и в течение 16 недель после получения последней дозы исследуемого препарата.

10 12. Во время исследования и в течение по меньшей мере 16 недель после получения последней дозы исследуемого препарата участник,

a. который ведет половую жизнь с женщиной с репродуктивным потенциалом, должен согласиться на использование барьерного метода контрацепции (например, презерватива со спермицидной пеной/гелем/пленкой/кремом/суппозиторием);

15 b. который ведет половую жизнь с беременной женщиной, должен использовать презерватив;

c. должен согласиться не сдавать сперму для воспроизводства.

Общий вариант

13. Иметь возможность и с готовностью соблюдать указанные в настоящем протоколе запреты и ограничения.
20

14. Необходимо подписать форму информированного согласия (ФИС), в которой указано, что участник или участница понимает цели и процедуры, которые требуются для исследования, и добровольно участвует в исследовании.

15. Необходимо подписать отдельную ФИС, если участник или участница согласится
25 предоставить необязательную пробу ДНК для исследования (если это разрешено местным законодательством). Отказ от предоставления согласия на взятие необязательной пробы ДНК не исключает возможности участия субъекта в клиническом исследовании.

5.2. Критерии исключения

30 Любой потенциальный участник, удовлетворяющий любому из следующих критериев, будет исключен из исследования по следующим причинам.

1. Имеет осложнения болезни Крона, такие как симптоматические стриктуры или стенозы, синдром короткой кишки или любые другие проявления, которые могут потребовать хирургического вмешательства, могут препятствовать использованию

CDAI для оценки ответа на терапию или, возможно, осложнят возможность оценить эффект лечения гуселькумабом или устекинумабом.

2. В настоящее время имеется или подозревается наличие абсцесса. Недавние кожные и перианальные абсцессы не являются поводом для исключения из исследования, если они дренированы и адекватно пролечены по меньшей мере за 3 недели до начала исследования или за 8 недель до начала исследования при внутрибрюшных абсцессах, при условии, что нет прогнозируемой необходимости в каком-либо дальнейшем хирургическом вмешательстве. Участники с активными фистулами могут быть включены в исследование, если нет прогнозируемой необходимости в каком-либо хирургическом вмешательстве, а в настоящее время не выявлено наличия абсцессов.

3. Субъект перенес любую резекцию кишечника в пределах 6 месяцев или любую другую внутрибрюшную или другую серьезную операцию (например, требующую общей анестезии) в течение 12 недель до начала исследования.

4. Имеет дренирующую (т. е. функционирующую) стому или остому.

5. Имеется положительный результат анализа посева кала или другого исследования на наличие кишечных патогенов, включая токсин *Clostridium difficile*, в течение предыдущих 4 месяцев, если повторное исследование не дает отрицательных результатов и нет признаков продолжающейся инфекции этим патогеном.

Прохождение одновременной или предшествующей лекарственной терапии

6. Получал какие-либо из следующих предписанных лекарств или препаратов в пределах указанного периода:

a. в/в введение кортикостероидов в пределах 3 недель перед началом исследования;

b. циклоспорин, такролимус, сиролимус или микофенолата мофетил, полученные в пределах 8 недель перед началом исследования;

c. 6-тиогуанин (6-TG), полученный в пределах 4 недель перед началом исследования;

d. биологические агенты:

1) препараты против ФНО (например, инфликсимаб, этанерцепт, цертолизумаб пегол, адалимумаб, голимумаб), полученные в пределах 8 недель перед началом исследования;

2) ведолизумаб, полученный в пределах 16 недель перед началом исследования;

3) устекинумаб, полученный в пределах 16 недель перед началом исследования;

4) другие иммуномодулирующие биологические агенты, полученные в пределах 12 недель от начала исследования или в пределах 5 периодов полувыведения перед началом исследования, в зависимости от того, что дольше;

e. любой исследуемый препарат, полученный в пределах 4 недель от начала исследования или в пределах 5 периодов полувыведения перед началом исследования, в зависимости от того, что дольше;

f. терапия с помощью неаутологичных стволовых клеток (например, Prochymal), натализумаба, эфализумаба или биологических препаратов, истощающих В- или Т-клетки (например, ритуксимаб, алемтузумаб или визилизумаб), полученная в пределах 12 месяцев перед началом исследования;

g. лечение болезни Крона с помощью афереза (например, афереза Adacolumn) или полного парентерального питания, полученное в пределах 3 недель от начала исследования.

7. Получение ранее биологического агента, нацеленного на ИЛ-12/23 или ИЛ-23, включая, помимо прочего, бриакинумаб, бразикумаб, гуселькумаб, мирикизумаб (ранее LY2525623) и рисанкизумаб.

Исключение. Участники, которые имели ограниченное воздействие устекинумабом в его одобренной дозировке, указанной на этикетке, **И** соответствуют требуемому критерию вымывания **И** не продемонстрировали неэффективность или непереносимость устекинумаба, не исключаются из этого протокола, при условии, что другие критерии включения были удовлетворены и нет других критериев исключения.

Инфекции или предрасположенность к инфекциям

8. Наличие в анамнезе или в настоящее время хронического или рецидивирующего инфекционного заболевания, включая, без ограничений, хроническую почечную инфекцию, хроническую легочную инфекцию (например, бронхоэктазы), рецидивирующую инфекцию мочевыводящих путей (например, рецидивирующий пиелонефрит или хронический неослабевающий цистит) или открытые дренирующие или инфицированные кожные раны или язвы.

9. Имеет текущие признаки или симптомы клинически значимой инфекции. Установленные нетяжелые инфекции (например, острая инфекция верхних дыхательных путей, простая инфекция мочевыводящих путей) по усмотрению исследователя могут не рассматриваться как повод для исключения из исследования.

10. Наличие в анамнезе тяжелых инфекций (например, гепатита, сепсиса, пневмонии или пиелонефрита), включая любую инфекцию, требующую госпитализации или внутривенного введения антибиотиков, за 8 недель до начала исследования.

11. Наличие признаков инфекции опоясывающего герпеса в пределах 8 недель до начала исследования.

12. Наличие в анамнезе перед проведением скрининга латентной или активной гранулематозной инфекции, включая гистоплазмоз или кокцидиоидомикоз. Участники с рентгенологическими признаками возможного предшествующего гистоплазмоза или кокцидиоидомикоза будут исключены.

5 13. Наличие рентгенограммы грудной клетки, полученной в течение 12 месяцев перед первым введением исследуемого агента, которая показывает аномалию, позволяющую предположить наличие злокачественной опухоли или активной в настоящее время инфекции, включая ТВ.

10 14. Имеется или в прошлом была перенесена нетуберкулезная микобактериальная инфекция или клинически значимая оппортунистическая инфекция (например, цитомегаловирусный колит, пневмоцистоз, инвазивный аспергиллез).

15 15. Участники должны пройти скрининг на вирус иммунодефицита человека (ВИЧ). Любой участник, имеющий в анамнезе положительный результат на антитела к ВИЧ или положительный результат теста на ВИЧ при скрининге, не имеет права участвовать в этом исследовании.

20 16. Субъекты, серопозитивные по антителам к вирусу гепатита С (ВГС), если только у них нет 2 отрицательных результатов теста на РНК ВГС, полученных по меньшей мере через 6 месяцев после завершения противовирусного лечения и перед проведением скрининга, а также третьего отрицательного результата теста на РНК ВГС, полученного при скрининге.

17. Наличие положительного результата теста на инфекцию вируса гепатита В (ВГВ).
Примечание. Для участников, которые не имеют права на участие в этом исследовании из-за результатов тестов на ВИЧ, ВГС, ВГВ или ТВ, рекомендуется консультация с врачом, имеющим опыт лечения этих инфекций.

25 18. Получение или планирование получения какой-либо живой вирусной или бактериальной вакцины в пределах 12 недель до первого введения исследуемого препарата. В отношении вакцины бацилла Кальметта-Герена (БЦЖ) см. критерий 14 исключения.

19. Вакцинация БЦЖ в пределах 12 месяцев перед прохождением скрининга.

30 **Злокачественные опухоли или повышенный риск появления злокачественных опухолей**

20. Наличие злокачественной опухоли в настоящее время или наличие злокачественной опухоли в анамнезе в пределах 5 лет до проведения скрининга (за исключением немеланомного рака кожи, который был адекватно пролечен без признаков рецидива в

пределах по меньшей мере 3 месяцев (по меньшей мере 12 недель) до получения первой дозы исследуемого препарата, или рака шейки матки *in situ*, который был пролечен без признаков рецидива в пределах по меньшей мере 3 месяцев до первого введения исследуемого препарата).

- 5 21. Наличие в анамнезе лимфопролиферативного заболевания, включая моноклональную гаммапатию неустановленного значения, лимфому, или признаков и симптомов, указывающих на возможное лимфопролиферативное заболевание, такое как лимфаденопатия, гепатомегалия или спленомегалия или моноклональная гаммапатия неустановленного значения.
- 10 **Сопутствующие медицинские состояния или анамнез перенесенных заболеваний**
22. Наличие в анамнезе тяжелых, прогрессирующих или неконтролируемых почечных, мочеполовых, печеночных, гематологических, эндокринных, сердечных, сосудистых, легочных, ревматологических, неврологических, психических или метаболических нарушений или их признаков и симптомов.
- 15 23. Наличие трансплантированного органа (за исключением пересадки роговицы более чем за 12 недель до проведения скрининга).
24. Субъект не может или не желает подвергаться множеству венепункций в связи с плохой переносимостью или отсутствием нормального доступа к венам.
25. Наличие информации о злоупотреблении субъектом наркотиками или алкоголем в соответствии с критериями Диагностического и статистического руководства по расстройствам (5-е издание) (DSM-V) в пределах 12 месяцев до начала исследования.
- 20 26. Наличие нестабильной психики с суицидальной направленностью мышления или суицидальным поведением в течение последних 6 месяцев, что может быть определено по Колумбийской шкале серьезности суицидальных намерений (C-SSRS) при скрининге: суицидальная направленность мышления с намерением действовать («уровень мышления 4»), суицидальная направленность мышления с конкретным планом и намерением («уровень мышления 5») или суицидальное поведение (фактическая попытка самоубийства, прерванная попытка самоубийства, остановка до начала реализации попытки самоубийства или подготовительное поведение для
- 25 совершения попытки самоубийства), а также мнение исследователя, который, ориентируясь на оценку, проведенную психиатром, отмечает определенный риск попытки самоубийства. Кроме того, могут не быть рандомизированы участники с рейтингами по шкале C-SSRS «желание смерти» («уровень мышления 1»), «неконкретные активные суицидальные мысли» («уровень мышления 2»), «активная
- 30

суицидальная направленность мышления с любыми методами» (без конкретного плана) без намерения действовать («уровень мышления 3») или с несуицидальным самоповреждающим поведением, которые, по мнению исследователя, относятся к группе риска.

5 27. Наличие установленной аллергии, гиперчувствительности или непереносимости гуселькумаба или устекинумаба или любого из их эксципиентов (см. гуселькумаб IB и устекинумаб IB).

10 28. Для женщины — наличие беременности, или осуществления грудного вскармливания, или планирование беременности во время участия в данном исследовании или в пределах 16 недель после получения последней дозы исследуемого препарата.

29. Для мужчины — планирование зачатия ребенка во время участия в этом исследовании или в пределах 16 недель после получения последней дозы исследуемого препарата.

15 **Общий вариант**

30. Участие или планирование участия в любом другом исследовании, в котором используется исследуемый агент или процедуры.

20 31. Какое-либо состояние, в связи с которым, по мнению исследователя, участие не будет полезным для данного участника (например, ухудшит самочувствие) или которое может препятствовать, ограничивать или исказить предусмотренные в протоколе оценки.

25 32. Факт того, что субъект является подчиненным сотрудником исследователя или работником исследовательского центра, непосредственно участвующим в намеченном исследовании или в других исследованиях под руководством данного исследователя или исследовательского центра, а также членом семьи исследователя или кого-либо из подчиненных сотрудников данного исследователя.

30 **ПРИМЕЧАНИЕ.** Исследователи должны обеспечить соблюдение всех критериев включения при скрининге. Участник должен быть исключен из исследования, если клиническое состояние участника изменяется (включая любые имеющиеся результаты лабораторных исследований или получение дополнительных медицинских данных) после проведения скрининга, но перед введением первой дозы исследуемого препарата, так, что он или она перестают соответствовать всем критериям включения.

Проводимые исследовательские вмешательства

На фазе 2 фазе 3 протокола:

- все участники получают 2 в/в инфузии на неделе 0 (либо активного препарата, либо плацебо) и 1 в/в инфузию на неделях 4, 8 и 12 (либо активного препарата, либо плацебо);
- все участники получают 1 п/к инъекцию (либо активного препарата, либо плацебо) на неделе 8 и до 3 п/к инъекций (либо активного препарата, либо плацебо) при каждом посещении в период с 12 недели и до недели 140.

Внутривенное введение исследуемого препарата следует осуществлять в течение периода не менее 1 часа и не более 2 часов. Инфузия должна быть проведена в пределах 6 часов после приготовления. Поскольку во время посещения участника для получения препарата ему может быть осуществлено несколько п/к инъекций, каждую новую инъекцию исследуемого препарата следует производить в другом месте на теле.

Сопутствующие лекарственные препараты

Участники, которые в начале исследования получают пероральные 5-АСК соединения, пероральные кортикостероиды, традиционные иммуномодуляторы (т. е. AZA, 6-MP или MTX), антибиотики и/или энтеральное питание для лечения болезни Крона, должны поддерживать стабильную дозу в течение определенного периода до начала исследования, как определено в критериях для включения.

Обычно, участники, получающие эти препараты для лечения болезни Крона с начала (т. е. на неделе 0) всех 3 исследований, должны поддерживать стабильную дозу до недели 48, за исключением пероральных кортикостероидов. После недели 0 проведение терапии может быть прекращено, либо могут быть уменьшены дозировки, если исследователь считает это необходимым из-за наличия токсичности или по другим медицинским соображениям; даже если токсичность устраняется, данную терапию не следует возобновлять. Прием кортикостероидов должен поддерживаться в исходных дозах до недели 12, и все участники должны начать снижать дозу кортикостероидов на неделе 12, за исключением случаев, когда это невозможно с медицинской точки зрения.

Период с недели 0 и до недели 48

В период с недели 0 и до недели 48 включенные в каждое исследование участники не должны начинать какую-либо из следующих сопутствующих медицинских терапий, специфичных для болезни Крона:

- пероральный или ректальный прием 5-АСК соединений;
- иммуномодуляторы (т. е. AZA, 6-MP или MTX);

- пероральный, парентеральный или ректальный прием кортикостероидов, включая будесонид и беклометазона дипропионат;
- антибиотики в качестве первичного лечения болезни Крона;
- полное парентеральное питание или энтеральное питание для лечения болезни Крона.

5 Если начато вышеуказанное медицинское лечение или дозы лекарств изменены на основании по требованию исследователя на основании медицинской необходимости, участники должны выполнять все посещения исследовательского центра и проходить все обследования. Хотя это не является отклонением от протокола исследования и участники могут продолжать назначенную им терапию (гуселькумаб, устекинумаб или плацебо), это можно рассматривать как неэффективность лечения. Критерии неэффективности лечения будут определены в SAP.

Период с недели 12 и до недели 48

В период с недели 12 и до недели 48 каждого исследования участники могут кратковременно (т. е. в течение < 4 недель) использовать повышенные дозы кортикостероидов по причинам, отличным от потери ответа на лечение болезни Крона (например, антистрессовые дозы кортикостероидов при хирургических вмешательствах, астме, надпочечниковой недостаточности).

Во время лечения на фазе LTE (т. е. в период с недели 48 и до недели 144)

20 Сопутствующие терапии болезни Крона, включая 5-АСК, кортикостероиды, антибиотики и иммуномодуляторы (т. е. AZA, 6-MP или MTX), и/или полное парентеральное или энтеральное питание могут назначаться и изменяться по усмотрению исследователя.

Снижение дозировок пероральных кортикостероидов

25 На неделе 12 все участники, принимавшие кортикостероиды на неделе 0, должны начать снижение дозы кортикостероидов. Это снижение является обязательным, за исключением случаев, когда это невозможно по медицинским показателям, и необходимо следовать рекомендуемому графику, показанному в таблице 6. Если у участников наблюдается усиление тяжести протекания заболевания при снижении дозы кортикостероидов, дальнейшее снижение дозы может быть приостановлено, и/или дозу перорального кортикостероида можно временно 30 увеличить, если исследователь сочтет это необходимым. Однако доза пероральных кортикостероидов не может быть увеличена выше дозы, принимаемой на неделе 0, за исключением случаев, когда это необходимо по медицинским показаниям. Для тех участников, чье снижение дозы кортикостероидов было прервано, исследователям

рекомендуется возобновить снижение дозы в течение 4 недель. Сокращение дозы кортикостероидов может превышать эти рекомендуемые сроки только в том случае, если это оправдано медицинской необходимостью (например, участник испытывает побочные эффекты, связанные с кортикостероидами).

5 **Запрет на применение сопутствующих лекарственных средств**

Из исследования будут исключены те участники, которые во время него начнут следующие виды лечения:

- Прием иммуномодулирующих препаратов, отличных от AZA, 6-MP или MTX (включая без ограничений, 6-TГ, циклоспорин, микофенолата мофетил, такролимус и сиролимус).
- Прием иммуномодулирующих биологических препаратов (включая без ограничений, антагонисты ФНО, натализумаб, устекинумаб, ритуксимаб, ведолизумаб). Прием устекинумаба разрешен в этом исследовании только тем участникам, которым рандомизировано был назначен устекинумаб, и только в соответствии с настоящим протоколом.
- Экспериментальные лекарственные средства для лечения болезни Крона (включая без ограничений, упадацитиниб, филготиниб, озанимод, этролизумаб, бразикумаб, мирикизумаб (ранее LY-3074828), рисанкизумаб, GS-5745).
- Талидомид или родственные препараты.

20 **Оценка эффективности**

Оценка эффективности будет включать следующее:

- CDAI.
- PRO-2 (невзвешенные компоненты CDAI, общей частоты жидкого или очень мягкого стула, и оценка частоты случаев боли в области живота).
- Эндоскопическая оценка слизистой оболочки кишечника на основе наличия и отсутствия изъязвлений слизистой оболочки, а также оценка на основе шкалы SES-CD и гистологическая оценка на основе шкалы общей гистологической активности (GHAS).
- Воспалительные ФД маркеры, включая СРБ и фекальный кальпротектин.
- Оценка фистул.
- Показатели, основанные на сообщаемом пациентом результате (PRO), для оценки результатов HRQOL (т. е. IBDQ, PROMIS-29 и короткая форма PROMIS Fatigue из 7 пунктов [7a] и EQ-5D-5L) и экономических показателей, связанных со здоровьем (т. е. WPAI-CD).

- Исследовательские оценки симптомов, сообщаемых пациентами, включая BSFS, AP-NRS (цифровая рейтинговая шкала боли в области живота), общее впечатление пациента о тяжести (PGIS) болезни Крона и общее впечатление пациента об изменении (PGIC) тяжести болезни Крона.

5 **CDAI** оценивают путем сбора информации о 8 различных переменных, связанных с болезнью Крона: внекишечные проявления, объемные образования в брюшной полости, масса тела, гематокрит, общее количество случаев жидкого или очень мягкого стула, боль/спазмы в области живота, использование противодиарейного (-ых) лекарственного (-ых) средства (средств) и /или опиатов, а также общее самочувствие.

10 Последние 4 показателя оцениваются участником в течение 7 дней в дневниковой карточке, которую участники должны заполнять ежедневно. **PRO-2** включает в себя невзвешенные компоненты CDAI, а именно: общее количество случаев жидкого или очень мягкого стула и балльная оценка AP.

Эндоскопические оценки слизистой оболочки кишечника будут оценивать во время

15 проведения илеоколоноскопии у всех участников. Видеоилеоколоноскопию будут проводить при проведении скрининга, на неделе 12, неделе 48 и неделе 96. В дополнение к указанным выше оценкам будет проведено необязательное подысследование, включающее оценку показателей недели 4, у участников, которые дали на это согласие. Видеоэндоскопию будут оценивать сотрудники центрального

20 учреждения, которые не будут знать типы экспериментальных групп и их участников, пришедших на обследование. Полное видеоэндоскопическое исследование не требует оценки терминального отдела подвздошной кишки, если он не может быть визуализирован. Для оценки **улучшения эндоскопических показателей** будут использовать шкалу **SES-CD**. Шкала SES-CD основана на оценке 4 эндоскопических

25 компонентов (наличие/размер язв, доля поверхности слизистой оболочки, покрытой язвами, доля поверхности слизистой оболочки с любыми другими поражениями и наличие/тип сужений/стриктур) в 5 сегментах подвздошно-ободочного участка кишечника. Каждый эндоскопический компонент оценивают по шкале от 0 до 3 баллов для каждого сегмента, что дает общую оценку до 15 баллов для каждого компонента, за

30 исключением компонента сужения, который может достигать максимального общего балла 11, поскольку по определению наличие сужения, через которое нельзя проникнуть с помощью эндоскопа, можно наблюдать только один раз. Таким образом, общее количество баллов по шкале SES-CD получают из суммы баллов всех компонентов и может варьироваться от 0 до 56. Кроме того, будут оценивать

излечение по данным эндоскопии, которое традиционно определяют как заживление (отсутствие) язв слизистой оболочки в ответ на терапевтическое вмешательство.

Гистологические оценки будут выполняться с использованием образцов биопсии, взятых во время илеоколоноскопии. Образцы биопсии будут брать во время скрининга,

5 на неделе 12, неделе 48 и неделе 96, в каждом из 3 определенных анатомических участков: терминальный отдел подвздошной кишки, селезеночный изгиб и прямая кишка. В дополнение к указанным выше оценкам будет проведено необязательное подисследование, включающее оценку показателей недели 4, у участников, которые дали на это согласие. Сбор образцов биопсии, собранных после начала исследования, 10 будет осуществляться рядом с местом сбора образцов биопсии в каждом из 3 определенных участков для проведения скрининга. Гистологические данные будут оценивать сотрудником центрального учреждения, который не будет знать типы экспериментальных групп и их участников, пришедших на обследование. Шкалу общей оценки гистологической активности (GHAS) будут использовать для оценки 15 гистологических улучшений и заживления. 5 видов анализа будут указаны в SAP.

Оценку фистул будут проводить у всех участников на постоянной основе в течение всего периода исследований. Всех участников будут оценивать на наличие фистул с начала исследования. У тех участников, у которых будет обнаружено 20 фистулизирующее заболевание, будут оценивать закрытие фистул во время исследований. Энтерокутаные фистулы (например, перианальные и абдоминальные) будут считать больше не дренирующими (т. е. закрытыми), если дренаж отсутствует, несмотря на легкое сжатие. Ректовагинальные фистулы будут считать закрытыми либо на основании физического осмотра, либо на основании отсутствия соответствующих 25 симптомов (например, выхода содержимого прямой кишки или газов через влагалище).

Сообщаемые пациентом результаты будут оценивать во время посещений, как указано в графике мероприятий (раздел 1.3):

• **IBDQ** — это утвержденный опросник из 32 пунктов, заполняемый участниками с ВЗК для оценки PRO по 4 параметрам: кишечные симптомы (жидкий стул, боль в области живота), системные симптомы (усталость, измененный режим сна), социальная 30 функция (активность по работе, необходимость в снижении социальных контактов) и эмоциональная функция (гнев, депрессия, раздражительность). Диапазон оценок (11) с количеством баллов от 32 до 224, при этом более высокие баллы указывают на лучшие результаты.

- **PROMIS-29** — это утвержденный опросник по общему профилю здоровья, не относящийся к конкретному заболеванию. Он представляет собой набор коротких форм, по 4 пункта для каждой из 7 областей (депрессия, тревога, физическая функция, болевые ощущения, утомляемость, нарушение сна и способность осуществлять социальные контакты и проявлять социальную активность). PROMIS-29 также включает в себя числовую шкалу оценки (NRS) общей средней интенсивности боли от 0 до 10 баллов.
- **Краткая форма PROMIS Fatigue из 7 пунктов** (Краткая форма PROMIS Fatigue 7a) содержит 7 пунктов, оценивающих связанные с утомлением симптомы (т. е. усталость, истощение, умственную усталость и недостаток энергии), а также связанные с ними последствия для повседневной деятельности (т. е. ограничения активности, связанной с работой, самообслуживанием и физическими упражнениями). Краткая форма PROMIS Fatigue Short Form 7a имеет период оценки — последние 7 дней. По сравнению со шкалой усталости PROMIS-29 краткая форма PROMIS Fatigue 7a предоставляет дополнительную информацию для оценки степени усталости.
- **EQ-5D-5L** представляет собой утвержденный инструмент, состоящий из описательной системы с пятью измерениями EuroQol (EQ-5D) и визуальной аналоговой шкалы EuroQol (EQ-VAS). Описательная система содержит 5 измерений (подвижность, самообслуживание, обычная деятельность, боль/дискомфорт и тревожность/депрессия). Каждое измерение имеет 5 уровней: нет проблем, незначительные проблемы, умеренные проблемы, серьезные проблемы и экстремальные проблемы. Респонденту предлагается указать свое состояние здоровья, отметив наиболее подходящее утверждение в каждом из 5 измерений. EQ-VAS регистрирует самооценку здоровья респондента по 20-сантиметровой вертикальной визуальной аналоговой шкале с конечными точками, помеченными как «наилучшее здоровье, которое вы можете себе представить» и «наихудшее здоровье, которое вы можете себе представить». Респонденты отмечают X на шкале, чтобы оценить свое здоровье СЕГОДНЯ, а затем записывают число, отмеченное на шкале, в соответствующее поле.
- **WPAI-CD** представляет собой утвержденный инструмент, созданный для количественной оценки сообщаемых пациентом уровней презентеизма и абсентеизма, а также ухудшения повседневной активности, связанных с болезнью Крона. WPAI-CD состоит из 6 вопросов для определения статуса занятости, рабочих часов, пропущенных из-за болезни Крона, рабочих часов, пропущенных по другим причинам, отработанных

часов, степени, в которой болезнь Крона повлияла на производительность труда во время работы, и степень, в которой болезнь Крона повлияла на деятельность вне работы. Выводятся четыре оценки в баллах: процентное содержание абсентеизма (пропущенных рабочих часов), процентное содержание презентеизма (снижения

5 производительности на работе), оценка общего ухудшения работы, которое сочетает абсентеизм и презентеизм, и процентное содержание ухудшения деятельности, выполняемой вне работы. Более высокие баллы указывают на большее ухудшение.

Сообщаемые пациентом результаты по вопросам исследования будут оцениваться во время посещений, как указано в графике мероприятий:

- 10 • **Бристольская шкала формы стула (BSFS)** — это медицинская классификация формы (или консистенции) человеческих фекалий по 7 категориям. Ее используют в качестве исследовательского инструмента для оценки эффективности лечения различных заболеваний кишечника (например, синдрома раздраженного кишечника (СРК)). Участники будут заполнять опросник BSFS и делать ежедневные записи в
- 15 дневнике с недели 0 и до недели 48.
- **AP-NRS** представляет собой 11-балльную (0–10) шкалу, которую будут использовать для оценки боли в области живота. Оценка 0 обозначает «отсутствие болей в области живота», а оценка 10 обозначает «самую сильную возможную боль в области живота», при этом более высокие баллы указывают на большую выраженность и интенсивность
- 20 боли. Участники будут заполнять опросник AP-NRS в качестве ежедневной записи в дневнике в период с недели 0 и до недели 48, выбирая только одно число, которое лучше всего отражает уровень их наиболее сильной боли.
- **Шкала PGIS по болезни Крона.** Участники будут оценивать активность болезни Крона на исходном уровне и при каждом посещении по 5-балльной шкале («Нет»,
- 25 «Легкая», «Умеренная», «Тяжелая» и «Очень тяжелая»). PGIS будут использовать в качестве отправной точки для установления и/или верификации критериев по ответам пациентов по другим клиническим конечным показателям.
- **Шкала PGIC (оценка общего впечатления врача об изменении состояния пациента) для оценки тяжести болезни Крона.** Воспринимаемое участниками
- 30 изменение (улучшение или ухудшение) тяжести болезни Крона будут оценивать с использованием PGIC. Участники будут оценивать, как изменилось течение их болезни Крона с начала исследования, используя 7-балльный диапазон шкалы от «сейчас намного лучше» до «сейчас» намного хуже» с нейтральной центральной точкой («ни лучше, ни хуже»). PGIC будут использовать в качестве отправной точки для

установления и/или верификации критериев по ответам пациентов по другим клиническим конечным показателям.

Оценки безопасности

Исследователь будет наблюдать за нежелательными явлениями и сообщать о них.

5 Любые клинически важные изменения, происходящие за время исследования, должны быть зарегистрированы в разделе нежелательных явлений в eCRF. Исследователь будет отслеживать любое клинически значимое отклонение от нормы, которое сохраняется к концу исследования / его досрочному прекращению, до его устранения или до достижения клинически стабильного состояния.

10 Данное исследование будет включать следующие оценки безопасности и переносимости в соответствии с моментами времени, указанными в графике мероприятий.

Электрокардиограмма

Во время скрининга будет проводиться электрокардиограмма в 12 отведениях

15 Во время проведения ЭКГ участники должны пребывать в спокойном состоянии без воздействия отвлекающих факторов (например, телевидения, мобильных телефонов). Субъекты должны находиться в положении лежа на спине в течение по меньшей мере 5 минут перед проведением ЭКГ и должны воздерживаться от разговоров или движений руками или ногами. Если забор крови или измерение основных показателей жизнедеятельности запланированы на тот же день, что и регистрация ЭКГ, процедуры следует выполнять в следующем порядке: ЭКГ, основные показатели жизнедеятельности, забор крови.

20

Физический осмотр

Медицинские осмотры будут проводиться в соответствии с установленным графиком мероприятий. Хотя оценка показателей участников на предмет безопасности и эффективности лечения требует определенного медицинского осмотра исследователем во время всех посещений, во время определенных посещений будут проводить более полный и подробный медицинский осмотр.

25

Рост и масса тела

30 Измерения роста и массы тела будут проводиться в соответствии с установленным графиком мероприятий. Субъекты должны будут снять обувь, а также уличную одежду и аксессуары.

Основные показатели жизнедеятельности

Основные показатели жизненно важных функций (включая температуру, пульс/частоту сердечных сокращений, частоту дыхания и артериальное давление) будут измерять до и примерно каждые 30 минут во время каждой в/в инфузии, а также примерно с 30-минутными интервалами после завершения последней в/в инфузии. Основные показатели жизнедеятельности следует оценивать до и примерно через 30 минут после последней п/к инъекции.

Инфекции

Лекарственное исследовательское вмешательство в рамках исследования не следует назначать участнику с клинически значимой активной инфекцией. Во время запланированных посещений исследователи должны оценивать участников на наличие любых признаков или симптомов инфекции (см. график мероприятий, раздел 1.3). Если у участника развивается серьезная инфекция, включая, помимо прочего, сепсис или пневмонию, необходимо рассмотреть вопрос о прекращении экспериментального лечения (т. е. о прекращении дальнейшего исследовательского вмешательства).

Анализ -(ы) на туберкулез

Исходный анализ на туберкулез

Участники исследования должны пройти проверку на ТВ, а оценка их анамнеза должна включать специальные вопросы относительно истории заболевания ТВ или известного профессионального или другого личного контакта пациента с людьми с активным ТВ. Участнику необходимо задать вопросы о предшествующих тестированиях на ТВ, включая результаты рентгенографии грудной клетки и туберкулиновой кожной пробы или других анализов на ТВ. Исследователи могут использовать оба теста по выбору: тест QuantiFERON-TB Gold и туберкулиновую кожную пробу для проведения скрининга на наличие латентного ТВ, если по их мнению использование обоих тестов клинически показано для обследования участника с высоким риском наличия латентного ТВ. Если либо тест QuantiFERON-TB Gold, либо туберкулиновая кожная проба дала положительный результат, считается, что участник имеет латентную ТВ инфекцию, что ставит под вопрос его дальнейшее участие в данном исследовании.

Субъекты с отрицательным результатом теста QuantiFERON-TB Gold (и с отрицательным результатом туберкулиновой кожной пробы в странах, в которых тест QuantiFERON-TB Gold не одобрен/не зарегистрирован, либо туберкулиновая кожная проба сделана обязательной местными органами здравоохранения) имеют право на продолжение участия в процедурах перед проведением рандомизации. Субъекты с

недавно выявленным положительным результатом теста QuantiFERON-TB Gold (и/или туберкулиновой кожной пробы) должны пройти обследование для исключения наличия активного ТБ и начала надлежащего лечения латентного ТБ. Надлежащее лечение латентного ТБ определяется в соответствии с национальными рекомендациями для

5 пациентов с ослабленным иммунитетом. Если не существует местных рекомендаций по поводу пациентов с ослабленным иммунитетом, необходимо соблюдать рекомендации США или исключить субъекта из исследования.

Участнику с сомнительным результатом первого теста QuantiFERON-TB Gold необходимо повторить тестирование. Если результат второго теста QuantiFERON-TB

10 Gold также является сомнительным, участник может быть зарегистрирован в исследовании без лечения латентного ТБ, если активный ТБ полностью исключен, на рентгенограмме грудной клетки отсутствуют отклонения, указывающие на ТБ (активный или старый неактивный ТБ), и данный участник по мнению исследователя не имеет дополнительных факторов риска по ТБ. Это решение должно быть

15 немедленно сообщено медицинскому наблюдателю спонсора или назначенного им лица и зарегистрировано в первичных документах участника за подписью исследователя.

Анализ на туберкулез

Раннее обнаружение активного туберкулеза

20 Чтобы упростить раннее обнаружение реактивации ТБ или новой инфекции ТБ во время исследования, у участников необходимо оценивать признаки и симптомы активного ТБ во время запланированных посещений или по телефону примерно каждые 8–12 недель. В ходе оценки предлагается использовать следующую серию вопросов:

- 25 • «Был ли у вас новый случай кашля продолжительностью более 14 дней или изменение хронического кашля?»
- «Были ли у вас какие-либо из следующих симптомов:
- Устойчивая лихорадка?
 - Непреднамеренное снижение веса?
 - 30 – Ночная потливость?»
- «Был ли у вас тесный контакт с человеком с активной формой ТБ?» (Если непонятно, следует ли считать контакт «близким», следует проконсультироваться с врачом, специализирующимся на ТБ).

Если оценка дает повод подозревать, что у участника может произойти реактивация ТВ или возникнуть новая инфекция ТВ, необходимо провести немедленное и тщательное обследование, включая, по возможности, консультацию с врачом, специализирующимся на ТВ. Исследователи должны знать, что реактивация ТВ у участников с ослабленным иммунитетом может проявляться в виде диссеминированного заболевания или внелегочных признаков. Участники с признаками активного ТВ должны быть направлены на соответствующее лечение. Во время проведения исследования участники, которые находились в тесном контакте с субъектом с активным ТВ, должны пройти повторную рентгенографию грудной клетки, повторный тест QuantiFERON TB Gold, повторную туберкулиновую кожную пробу в странах, в которых тест QuantiFERON TB Gold не одобрен/не зарегистрирован или в которых местным законодательством требуется проведение туберкулиновой кожной пробы, а также, по возможности, должны быть направлены к врачу-специалисту по ТВ для определения риска развития активного ТВ и проверки того, необходимо ли лечение латентного ТВ.

Во время проверки следует прекратить введение исследуемого препарата. Положительный результат теста QuantiFERON-TB Gold или кожной туберкулиновой пробы следует рассматривать как выявление латентного ТБ. Если результат теста QuantiFERON-TB Gold не определен, тест следует повторить, как описано в приложении 5 (раздел 10.5). Участников следует побуждать осуществлять все последующие запланированные посещения в рамках исследования в соответствии с протоколом. Субъекты, которые преждевременно прекращают лечение латентного ТВ или не соблюдают режим терапии, должны немедленно прекратить дальнейшее получение исследуемого препарата и должны побуждаться к осуществлению всех запланированных посещений в рамках исследования в соответствии с графиком мероприятий (раздел 1.3).

Аллергические реакции

Перед осуществлением любой п/к инъекции или в/в инфузии необходимо обеспечить должным образом обученный персонал и лекарственные средства для лечения аллергических реакций, включая анафилаксию. Всех участников необходимо тщательно наблюдать на наличие симптомов аллергической реакции (например, крапивницы, зуда, волдырей). При обнаружении легкой или умеренной аллергической реакции можно вводить ацетаминофен или нестероидные противовоспалительные средства и/или дифенгидрамин.

В случае тяжелой аллергической реакции (например, анафилаксии) необходимы водный раствор адреналина для п/к введения, кортикостероиды, респираторная поддержка и другие надлежащие средства для проведения реанимационных мероприятий, которые должны быть доступны в месте проведения исследования, где
5 проводятся инъекции или инфузии.

Участники, которые испытывают серьезные побочные реакции, связанные с инъекциями или инфузиями, должны прекратить дальнейший прием исследуемого препарата.

Субъектам, у которых после инъекции или инфузии развиваются реакции, которые
10 приводят к бронхоспазму с легочной обструкцией и/или к затруднению дыхания, требующему вентиляционной поддержки, или к симптоматической гипотензии со снижением систолического кровяного давления на более чем 40 мм рт. ст., не допускается получать дальнейшие дозы исследуемого препарата.

Участники, которые испытывают реакции, напоминающие реакции в случае
15 сывороточной болезни (приводящие к таким симптомам, как миалгия и/или артралгия с лихорадкой и/или сыпью, которые не являются репрезентативными признаками и симптомами других признанных клинических синдромов), возникающие через 1–14 дней после инъекции исследуемого препарата, должны прекратить дальнейшее получение исследуемого препарата. Стоит отметить, что эти симптомы могут
20 сопровождаться другими явлениями, включая зуд, отек на лице, руках или губах, дисфагию, крапивницу, боль в горле и/или головную боль.

Нежелательные явления, временно связанные с инфузией

Любое НЯ (за исключением лабораторных отклонений), возникающее во время или в течение 1 часа после в/в инфузии исследуемого препарата, будут подвергать
25 тщательной оценке. Незначительные НЯ, связанные с инфузией, можно убрать путем замедления скорости внутривенного вливания и/или лечения антигистаминными препаратами и/или ацетаминофеном (парацетамолом) по клиническим показаниям. Если в/в инфузия исследуемого препарата была прекращена из-за НЯ, которое, по
30 мнению исследователя, не является тяжелым или не приводит к серьезным нежелательным явлениям (СНЯ), проведение инфузии можно возобновить с осторожностью.

Реакции в месте инъекции

Реакция в месте инъекции — это любая побочная реакция в месте инъекции при п/к введении исследуемого препарата. Места инъекций будут оценивать на наличие реакций, и любую реакцию в месте инъекции будет записывать как НЯ.

5 **Колумбийская шкала оценки тяжести самоубийств (C-SSRS)**

По шкале C-SSRS определяют 5 подтипов суицидальной направленности мышления и 4 возможных варианта суицидального поведения, а также несуйцидальное самоповреждающее поведение и завершённый суицид. В данном исследовании ее будут использовать в качестве инструмента скрининга для проспективной оценки суицидальной направленности мышления и поведения в рамках комплексной оценки безопасности. C-SSRS обеспечена в виде предоставляемой исследователем анкеты. В этом исследовании будут использовать две версии: версия C-SSRS «исходный уровень/скрининг» будет применяться во время посещения участника для скрининга, а версия C-SSRS «с момента последнего посещения» будет заполняться во время всех других посещений до окончания исследования.

Опросом участника и заполнением C-SSRS будет заниматься исследователь или обученный персонал исследовательского центра. C-SSR будут предоставлены на местных языках в соответствии с местными методическими рекомендациями.

При скрининге опрос по C-SSRS будет первым обследованием, выполняемым перед любой другой процедурой исследования. При всех последующих посещениях опрос по C-SSRS будет проводиться в соответствии с графиком обследований и должен выполняться после других PRO-мероприятий, но перед любой другой процедурой исследования. Опросом участников будет заниматься исследователь или обученный персонал исследовательского центра в уединенном тихом месте.

По завершении каждого опроса обученный персонал, проводящий C-SSRS, определит уровень суицидальной направленности мышления или поведения, при их наличии. Затем, если будут обнаружены какая-либо суицидальная направленность мышления или поведение, они определяют следующий план действий. Участник не должен покидать учреждения до тех пор, пока исследователь не ознакомится с C-SSRS, не будет оценен риск участника и при необходимости не будет назначено последующее наблюдение.

На основании оценки, данной психиатром (например, психиатром, психологом или соответствующим образом обученным социальным работником или медсестрой) **по результатам скрининга (в течение последних 6 месяцев) и на неделе 0**, перед

рандомизацией исследователь должен прийти к выводу, что участники не находятся в зоне риска, получив следующие оценки по шкале C-SSRS: «суицидальная направленность мышления с намерением действовать» («уровень мышления 4»), «суицидальная направленность мышления с конкретным планом и намерением» (5 «уровень мышления 5») или «суицидальное поведение» (фактическая попытка самоубийства, прерванная попытка самоубийства, отказ от самоубийства в последний момент подготовки к нему или подготовительные действия для совершения попытки самоубийства).

10 Перед рандомизацией исследователь должен прийти к выводу, что участники не находятся в зоне риска, получив следующие оценки по шкале C-SSRS: «желание смерти» («уровень мышления 1»), «неконкретные активные суицидальные мысли» («уровень мышления 2»), «активная суицидальная направленность мышления с любыми методами (без конкретного плана) без намерения действовать» («уровень мышления 3») или «несуицидальное самоповреждающее поведение». Любые вопросы, 15 касающиеся права таких участников на их включение в исследование, должны обсуждаться с медицинским наблюдателем или уполномоченным лицом.

Для каждой оценки после недели 0 следует предпринять, если это приемлемо, следующие действия:

- Отсутствие суицидальной направленности мышления или поведения (включая 20 самоповреждающее поведение без суицидальных намерений): никаких дальнейших действий не требуется.
- Суицидальная направленность мышления 1–3 уровней или несуйцидальное самоповреждающее поведение: риск участника оценивается исследователем.
- Суицидальная направленность мышления 4 или 5 или любое суицидальное поведение: 25 оценка риска участника и направление его к психиатру.

Прерывание или прекращение участия в исследовании следует рассматривать для любого участника, который после начала исследования сообщает о «суицидальной направленности мышления с намерением действовать» («уровень мышления 4»), «суицидальной направленности мышления с конкретным планом и намерением» 30 («уровень мышления 5») или «суицидальном поведении» (фактическая попытка самоубийства, прерванная попытка самоубийства, отказ от самоубийства в последний момент подготовки к нему или подготовительные действия для совершения попытки самоубийства) по шкале C-SSRS и который, по мнению исследователя, находится в группе риска на основании оценки, проведенной психиатром. Если участник может

получить адекватное лечение с помощью психотерапии и/или фармакотерапии, то такому участнику, по усмотрению исследователя, может быть продолжено введение исследуемого препарата с согласия медицинского наблюдателя или уполномоченного лица. Необходимо обсуждение участия таких субъектов в исследовании с медицинским наблюдателем или уполномоченным лицом.

О любой оценке по шкале C-SSRS, которая, по мнению исследователя, показывает клинически значимое изменение или ухудшение, необходимо сообщить в eCRF в качестве НЯ — нежелательные явления: определения и процедуры регистрации, оценки, последующего наблюдения и отчетности.

10 **Лабораторные исследования по клинической безопасности**

Будут взяты образцы крови для определения биохимических и гематологических показателей сыворотки. Исследователь должен изучить данные лабораторных анализов, составить отчет по результатам и зарегистрировать любые клинически значимые изменения, возникшие в ходе исследования, в разделе «НЯ» в eCRF.

15 Лабораторные отчеты должны быть поданы вместе с первичными документами.

Следующие тесты будут проводиться центральной лабораторией, если иное не указано или не одобрено медицинским наблюдателем.

- **Гематологические оценки** будут включать, без ограничений, следующее: уровень гемоглобина, гематокрит, количество тромбоцитов, общее количество лейкоцитов (WBC) и количество WBC при дифференцированном подсчете.

- **Оценка биохимического состава крови** будет включать, без ограничений, следующее: биохимический анализ крови (общий и прямой билирубин, АЛТ, АСТ, щелочная фосфатаза, альбумин, общий белок в крови, кальций, фосфат, натрий, калий, хлорид, азот мочевины крови/мочевина и креатинин).

25 Медицинский наблюдатель или делегат и клиническое учреждение будут уведомлены, если во время проведения исследования у любого участника будут выявлены заранее перечисленные аномальные лабораторные показатели, указанные в Руководстве по лабораторным методам диагностики.

- **Серология.** Антитело к ВИЧ, антитела к ВГВ и поверхностный антиген ВГВ, а также антитело к ВГС.

- **Аномальные функциональные тесты печени.** Если лабораторное тестирование субъекта, включенного в исследование и получающего исследуемый препарат, выявляет повышение уровня сывороточных аминотрансфераз (АЛТ или АСТ) до $> 3 \times$ ВПН (верхний предел нормы) и повышение уровня билирубина до $> 2 \times$ ВПН, прием

исследуемого препарата следует немедленно приостановить. Кроме того, результаты лабораторных тестов на АЛТ, АСТ, щелочную фосфатазу и общий билирубин должны быть подтверждены повторным тестом в течение 24 часов, если это возможно, но не позднее, чем через 72 часа после сообщения результатов теста.

- 5 • **Тест на беременность.** Участницы с репродуктивным потенциалом будут проходить тест мочи на беременность при скрининге перед каждым введением исследовательского препарата, при посещениях для SID (прекращение исследуемого вмешательства) и оценки FES (конечная эффективность и безопасность).

Оценка иммуногенности (антител к гуселькумабу и устекинумабу)

- 10 Будет проведен скрининг образцов сыворотки крови на наличие антител, связывающихся с гуселькумабом или устекинумабом, и будет указан титр подтвержденных положительных образцов, если таковы будут обнаружены. Для дополнительного определения характеристик иммуногенности гуселькумаба или устекинумаба можно проводить другие анализы. Антитела к гуселькумабу или
- 15 устекинумабу будут оценивать в крови, взятой у всех участников. Кроме того, пробы крови также следует отбирать во время завершающего посещения у участников, которые выбыли из исследования. Эти образцы будут исследованы спонсором или уполномоченным лицом спонсора. Генетические анализы этих образцов сыворотки проводиться не будут. Конфиденциальность участников будет сохранена.

Оценки

- 20 Во время посещений для оценки антител к исследуемому препарату в дополнение к концентрации исследуемого препарата в сыворотке крови следует взять 1 пробу венозной крови достаточного объема. Каждый образец сыворотки крови будет разделен на 3 аликвоты
- 25 (одна для анализа концентрации исследуемого препарата в сыворотке крови, одна для анализа антител к исследуемому препарату и резервная аликвота).

Аналитические процедуры

- 30 Обнаружение и характеристика антител к гуселькумабу в сыворотке крови с применением утвержденных способов анализа будут проводиться спонсором или под его контролем.

Оценка лекарственных средств

При каждом посещении будут оценивать сопутствующие лекарственные средства.

Нежелательные явления и серьезные нежелательные явления

Представление своевременной, точной и полной отчетности и анализ информации о безопасности, полученной в ходе клинических исследований, имеют решающее значение для защиты участников, исследователей и спонсора и являются обязательным требованием регулирующих органов по всему миру. Спонсор установил стандартные операционные процедуры в соответствии с нормативными требованиями по всему миру, чтобы обеспечить предоставление надлежащей отчетности с информацией о безопасности; все клинические исследования, проводимые спонсором или его аффилированными лицами, будут проводиться в соответствии с этими процедурами.

Во время исследования о нежелательных явлениях будет сообщать участник (или, при необходимости, лицо, осуществляющее уход, замещающее лицо или законный представитель участника исследования).

Ожидаемые явления будут регистрироваться и сообщаться.

Период времени и частота сбора информации о нежелательных явлениях и серьезных нежелательных явлениях

Все нежелательные явления

Все НЯ и ситуации, требующие специальной отчетности, серьезные или несерьезные, будут регистрироваться с момента получения подписанной и датированной формы информированного согласия (ФИС) и до завершения участником последней связанной с исследованием процедуры (которая может включать контакт для последующего наблюдения для оценки безопасности). Серьезные нежелательные явления, включая спонтанно сообщенные исследователю в течение 16 дней после введения последней дозы исследуемого препарата, должны регистрироваться с использованием формы для записи о серьезных нежелательных явлениях. Спонсор проведет оценку всей информации о безопасности, которая будет спонтанно передана исследователем, в сроки, указанные в протоколе.

Серьезные нежелательные явления

Обо всех серьезных нежелательных явлениях (СНЯ), происходящих во время исследования, персонал исследовательского центра должен сообщать соответствующему контактному лицу спонсора или уполномоченного лица спонсора в течение 24 часов с момента получения информации о данном явлении. Информация о СНЯ будет передана спонсору или его уполномоченному лицу с использованием формы для записи о серьезных нежелательных явлениях, которая

должная быть заполнена и прорецензирована врачом из исследовательского центра и передана спонсору в течение 24 часов.

Последующее наблюдение нежелательных явлений и серьезных нежелательных явлений

5 Исследователь будет наблюдать за нежелательными явлениями, включая беременность.

Нормативные требования к отчетам о серьезных нежелательных явлениях

Спонсор принимает на себя ответственность за надлежащее информирование регуляторных органов о НЯ. Спонсор также будет сообщать исследователю (и
10 руководителю исследовательского учреждения, если это необходимо) обо всех предполагаемых непредвиденных серьезных нежелательных реакциях (SUSAR). Исследователь (или спонсор, если необходимо) должен сообщить о SUSAR в соответствующий независимый комитет по этике/наблюдательный совет учреждения (IEC/IRB), который одобрил протокол, если только иное не требуется и не
15 зафиксировано в документах IEC/IRB. О SUSAR будет сообщено регулирующим органам с предоставлением всей информации. Участвующие исследователи и IEC/IRB получают информацию о SUSAR с соблюдением слепого метода исследования, если не указано иное.

Беременность

20 Персонал исследовательского центра должен сообщать спонсору или его уполномоченному лицу о всех первоначальных сообщениях о беременности у участниц исследования или у партнерш участников в течение 24 часов с момента получения информации об этом событии, используя соответствующую форму уведомления о беременности. Патологические исходы беременности (например, спонтанный аборт,
25 внутриутробная гибель плода, мертворождение, врожденная аномалия, внематочная беременность) считаются СНЯ, и о них необходимо сообщать, используя форму для серьезных нежелательных явлений. Любая участница, которая забеременела во время исследования, должна прекратить дальнейший прием исследуемого препарата. Будет необходимо предоставлять информацию по периоду последующего наблюдения,
30 касающуюся разрешения беременности и любых постнатальных последствий для новорожденного.

Случаи особого интереса

Исследователь должен сообщать о любой выявленной у участников данного клинического исследования злокачественной опухоли или о случае активного ТВ,

возникшем после введения первой (-ых) дозы (доз) исследуемого препарата. Исследователям также сообщается о том, что в большинстве стран активный ТВ считается заболеванием, о котором следует подавать отчет. Эти явления следует считать серьезными, только если они соответствуют определению СНЯ.

5 **Лечение передозировки**

Для этого исследования передозировкой будет считаться любая доза исследуемого препарата, превышающая максимальную определенную в этом протоколе дозу для однократного введения. Спонсор не предлагает конкретных рекомендаций при передозировке.

10 В случае передозировки исследователь или лечащий врач должен:

- немедленно связаться с медицинским наблюдателем;
- внимательно следить за участником на предмет НЯ/СНЯ и лабораторных отклонений;
- задокументировать величину избыточной дозы в eCRF.

15 Решения относительно перерывов в предоставлении исследуемого препарата или модификаций дозировки будут приниматься исследователем после консультации с медицинским наблюдателем на основании клинической оценки участника.

Фармакокинетика

20 Образцы сыворотки крови будут использоваться для оценки ФК гуселькумаба и устекинумаба. Образцы, собранные для анализа концентраций гуселькумаба и устекинумаба в сыворотке крови, можно дополнительно использовать для оценки аспектов безопасности или эффективности, которые связаны с проблемами, возникающими во время периода исследования или после него, или для оценки соответствующих биомаркеров. Генетические анализы этих образцов сыворотки проводиться не будут. Конфиденциальность участников будет сохранена.

25 **Оценки**

При посещениях, во время которых будут оценивать только концентрацию исследуемого препарата в сыворотке крови (т. е. не будут оценивать антитела к исследуемому препарату), следует взять 1 образец венозной крови достаточного объема, а каждый образец сыворотки следует разделить на 2 аликвоты (1 для 30 определения концентрации исследуемого препарата в сыворотке крови и резервная аликвота). При посещениях, во время которых будут оценивать концентрацию исследуемого препарата, а также антитела к исследуемому препарату в сыворотке крови, следует взять 1 образец венозной крови достаточного объема. Каждый образец сыворотки крови будет разделен на 3 аликвоты (одна для анализа концентрации

исследуемого препарата в сыворотке крови, одна для анализа антител к исследуемому препарату и резервная аликвота).

Аналитические процедуры

5 Образцы сыворотки для определения концентраций гуселькумаба и устекинумаба с использованием соответствующих утвержденных, специфических и чувствительных способов будут проанализированы спонсором или с помощью установленных спонсором соответствующих методов анализа.

Фармакокинетические параметры

10 Образцы сыворотки будут использовать для оценки различных параметров ФК гуселькумаба на основе образцов крови, взятых у всех участников в соответствии с графиком мероприятий.

Фармакодинамика

15 Воспалительные маркеры ФД будут оценивать с использованием образцов крови, собранных во время посещений. Результаты тестов на ФД, проведенных после начала исследования, не будут переданы исследователям центральной лабораторией.

• Была продемонстрирована полезность **СРБ** в качестве маркера воспаления у пациентов с ВЗК. При болезни Крона повышенные концентрации СРБ были связаны с тяжелой клинической активностью, повышенной скоростью оседания и наличием активного заболевания, что было обнаружено при колоноскопии. Образцы крови для измерения уровня СРБ будут взяты у всех участников. СРБ будут оценивать с использованием утвержденного высокочувствительного анализа.

20

• Было показано, что **фекальный кальпротектин** является чувствительным и специфическим маркером для выявления воспаления кишечника и ответа на лечение у пациентов с ВЗК. 3 образца стула для определения концентрации фекального кальпротектина будут взяты у всех участников. Анализ концентрации фекального кальпротектина будут проводить с использованием утвержденного способа. На образцах стула можно проводить дополнительные тесты для оценки дополнительных маркеров, связанных с воспалением кишечника и реакцией на лечение, таких как микробиом.

25

Генетика

30

Образец крови для фармакогеномного исследования будет взят у участников, давших отдельное согласие на участие в этом компоненте фармакогеномного исследования, если будет необходимо и разрешено местным законодательством. Участие в фармакогеномном исследовании является необязательным.

Генетическая (ДНК) изменчивость может быть важным фактором, влияющим на межиндивидуальную вариабельность ответа на лекарственное средство и связанные с ним клинические исходы. Генетические факторы также могут служить маркерами предрасположенности к заболеванию и прогностическими маркерами, а также могут определять подгруппы популяции, которые по-разному реагируют на введение лекарственного средства.

Образцы ДНК будут проанализированы для выявления генетических факторов, которые могут быть связаны с клиническим ответом. Это исследование может состоять из анализа 1 или более генов-кандидатов, оценки одиночных нуклеиновых полиморфизмов (SNP) или анализа всего генома (в зависимости от обстоятельств) в их связи с использованием гуселькумаба или устекинумаба и/или болезнью Крона. Для генетического анализа будут взяты образцы цельной крови объемом примерно 10 мл.

Фаза 2 исследования диапазона доз (GALAXI 1)

Основная гипотеза заключается в том, что гуселькумаб превосходит плацебо, о чем свидетельствует снижение показателя CDAI на неделе 12 по сравнению с исходным уровнем.

Исследования фазы 3 по подтверждению дозирования (GALAXI 2 и GALAXI 3)

Основная гипотеза заключается в том, что лечение гуселькумабом превосходит плацебо, что оценивается по доле участников, достигших клинической ремиссии на неделе 12.

Хотя конечной целью является демонстрация того, что гуселькумаб по эффективности превосходит устекинумаб, для подтверждения основных вторичных гипотез при сравнении с устекинумабом также будет проведен первоначальный тест на отсутствие превосходства контрольного препарата над изучаемым, поскольку общий профиль гуселькумаба может быть благоприятнее по сравнению с устекинумабом (с точки зрения общей эффективности и безопасности), даже если окончательные результаты указывают только на относительную эффективность в зависимости от **определения размера выборки.**

Предположения

Как кратко изложено в следующих разделах, основой для исходных предположений по определению размера выборки на фазе 2 и фазе 3 исследования послужили данные из нескольких источников. К ним относится программа фазы 3 исследования устекинумаба для лечения болезни Крона, состоящая из 3 исследований (т. е. CNTO1275CRD3001, CNTO1275CRD3002 и CNTO1275CRD3003), данная

программа предназначена спонсором для участников с болезнью Крона, у которых ранее не было ответа или была непереносимость к терапии антагонистами ФНО (обозначение в настоящем документе — TNF-Failure) или у которых не было ответа или была непереносимость к стандартным видам терапии (обозначение в настоящем документе — CON-Failure); а также они включают данные по фазе 2 исследования рисанкизумаба для лечения участников с болезнью Крона, в которой большинство этих участников были теми, у кого ранее не было ответа или была непереносимость к биологической терапии (обозначение в настоящем документе — BIO-Failure).

Клиническая ремиссия на неделе 12

Предположения на неделе 12 по популяции BIO-Failure были основаны на следующем:

- В исследовании CNTO1275CRD3001 доля участников с клинической ремиссией (CDAI < 150) на неделе 8 составила 7,3% и 20,9% для групп плацебо и для групп, принимавших устекинумаба ~6 мг/кг, соответственно, таким образом разница в эффективности лечения составила 13,6%.⁸
- С учетом частоты клинической ремиссии на неделе 12 в 15% для групп, получавших плацебо, фаза 2 исследования рисанкизумаба показала, что разница в частоте клинической ремиссии на неделе 12 составляет примерно 9% между группами, получавшими рисанкизумаб 200 мг в/в, и группами плацебо, а также разница составляет примерно 21% между группами, получавшими рисанкизумаб 600 мг в/в, и группами плацебо.⁷

На основании этих данных сделано предположение, что частота клинической ремиссии на неделе 12 в популяции BIO-Failure будет составлять 10% для групп плацебо, 20% для групп, получающих гуселькумаб 200 мг в/в, и 30% для групп, получающих гуселькумаб 600 мг в/в.

Предположения на неделе 12 по популяции CON-Failure были основаны на следующем:

- В исследовании CNTO1275CRD3002 доля участников с клинической ремиссией на неделе 8 составила 19,6% и 40,2% для групп плацебо и для групп, принимавших устекинумаб ~6 мг/кг, соответственно, таким образом разница в эффективности лечения составила 20,6%.⁸
- В настоящее время нет доступных данных по эффективности лечения гуселькумабом или другими агентами к ИЛ-23 в популяции CON-Failure. На основании данных исследования CNTO1275CRD3002 и ранних биологических исследованиях в похожих популяциях разумно предположить большую разницу в эффекте лечения между

группами, получающими активный агент, и получающими плацебо, в популяции CON-Failure по сравнению с разницей между этими группами в популяции BIO-Failure.

Кроме того, предполагается, что тенденция дозозависимого ответа в популяции CON-Failure аналогична тенденции, наблюдаемой в популяции BIO-Failure.

- 5 На основании этих данных и предположений сделано допущение, что частота клинической ремиссии в популяции CON-Failure будет составлять 20% для групп плацебо, 40% для групп, получающих гуселькумаб 200 мг в/в, и 50% для групп, получающих гуселькумаб 600 мг в/в.

- 10 В связи с отсутствием данных о результатах использования 1200 мг в/в гуселькумаба или других агентов к ИЛ-23, во избежание преувеличения эффектов предполагается, что частота клинической ремиссии при использовании 1200 мг гуселькумаба в/в аналогична таковой при использовании 600 мг гуселькумаба в/в, как минимум для популяций BIO-Failure и CON-Failure.

- 15 Принимая во внимание смешанную популяцию BIO-Failure/CON-Failure, предположения для всей рандомизированной популяции на неделе 12 основывались на следующем:

- Исходя из того, что в популяции пациентов CON-Failure каждый вид групп составляет от минимум 25% и до 50%, доля участников, достигших клинической ремиссии на неделе 12, как ожидается, составит примерно от 12% до 15% в группах плацебо, 20 примерно от 25% до 30% в группах, получающих 200 мг гуселькумаба в/в, и приблизительно от 35% до 40% в группах, получающих 600 мг гуселькумаба в/в и 1200 мг гуселькумаба в/в.

Изменение показателя CDAI на неделе 12

- 25 Предположения по популяции BIO-Failure и популяции CON-Failure основаны на следующем:

- В исследовании CNTO1275CRD3001 среднее изменение показателя CDAI на неделе 8 по сравнению с исходным уровнем составило -25,1 (стандартное отклонение (SD)) = 91,41) и -78,7 (SD = 91,79) для групп плацебо и групп устекинумаба с дозировкой 6 мг/кг соответственно.
- 30 • В исследовании CNTO1275CRD3002 среднее изменение показателя CDAI на неделе 8 по сравнению с исходным уровнем составило -66,3 (стандартное отклонение (SD)) = 97,81) и -116,3 (SD = 102,88) для групп плацебо и групп устекинумаба с дозировкой 6 мг/кг соответственно.

Принимая во внимание смешанную BIO-Failure/CON-Failure популяцию пациентов, ожидается, что среднее снижение показателя CDAI на неделе 12 по сравнению с исходным уровнем составит приблизительно от 45 до 50 баллов для групп плацебо, приблизительно от 85 до 95 для групп гуселькумаба с дозировкой 200 мг в/в и приблизительно от 105 до 115 для групп гуселькумаба с дозировкой 600 мг в/в и групп гуселькумаба с дозировкой 1200 мг в/в на неделе 12 с общим SD, равным 100 (с учетом повышенной вариабельности в относительно небольшом исследовании фазы 2).

Клиническая ремиссия на неделе 48

Показатели частоты клинической ремиссии на неделе 48 были получены путем объединения рандомизированной и нерандомизированной популяции в исследовании CNTO1275CRD3003, в результате чего частота клинической ремиссии в группах устекинумаба составила 23% у участников с TNF-Failure и 50% у участников CON-Failure. Таким образом, ожидается, что общая рандомизированная популяция, получающая устекинумаб, с долей участников CON-Failure от минимум 25% и до 50%, достигнет приблизительно от 30% до 36% клинической ремиссии на неделе 48. Предполагается, что относительно достижения клинической ремиссии значимая разница в 15% между группами гуселькумаба и устекинумаба будет достигнута на неделе 48.

Расчет мощности и размера выборки

Фаза 2 исследования диапазона доз (GALAXI 1)

Мощность на фазе 2 оценивали для 2 анализируемых популяций, описанных ниже, с использованием t-критерия для 2 выборок (при уровне значимости 0,05) для выявления значительной разницы в изменении показателя CDAI на неделе 12 по сравнению с исходным уровнем между группой, получающей высокие начальные дозы гуселькумаба в/в, и группой, получающей плацебо.

При предположении, что среднее снижение показателя CDAI на неделе 12 по сравнению с исходным уровнем составит примерно 105–115 баллов в группе, получающей высокие начальные дозы гуселькумаба в/в, в сравнении с примерно 45–50 баллами снижения в группе плацебо, с общим SD = 100:

Когорта для исследования по определению оптимальной начальной дозы.

50 участников в группе с высокими начальными дозами гуселькумаба в/в и 50 участников в группе плацебо обеспечат мощность более 80% для выявления различий в лечении между гуселькумабом и плацебо при контролируемой частоте ошибок 1-го типа при α (уровень значимости) = 0,05 (2-сторонний критерий) (таблица 8). С 5 группами,

которые получают различные дозы, общий размер выборки для когорты в исследовании по определению начальной дозы составляет 250 субъектов.

Для общей популяции фазы 2 исследования. Ожидается, что от 100 до 250 участников будут зачислены в переходную когорту к тому времени, когда будет

5 принято решение о дозе, которую будут использовать на фазе 3 исследования. Таким образом, ожидается, что размер выборки для всей фазы 2 исследования будет варьироваться от минимум 350 участников (70 на каждую группу с конкретной дозой) до максимум 500 участников (100 на каждую группу с конкретной дозой). Величина

10 мощности при минимальном количестве участников составляет более 90% относительно изменения показателя CDAI на неделе 12 относительно исходного уровня и более 85% относительно клинической ремиссии на неделе 12 (таблица 8). **Таблица 8.**

Величина мощности для выявления терапевтического эффекта гуселькумаба по сравнению с плацебо на основе среднего изменения показателя CDAI и доли участников, достигших клинической ремиссии на неделе 12

15 **Анализ безопасности**

Нежелательные явления

Дословные термины, применяемые исследователями в eCRF для определения НЯ, будут закодированы с помощью Медицинского словаря терминологии регулятивной деятельности. НЯ, возникшие во время лечения, — это НЯ, возникающие

20 на фазе вмешательства или являющиеся следствием ранее существовавшего состояния, которое ухудшилось по сравнению с исходным уровнем. В анализ будут включены все сообщенные НЯ, возникшие во время лечения. Для каждого НЯ по каждой экспериментальной группе будут суммировать процент субъектов, у которых наблюдался по меньшей мере 1 эпизод данного явления.

25 Для оценки безопасности участников будут использовать следующие виды анализов НЯ:

- частота и тип НЯ;
- частота и тип СНЯ;
- частота и тип НЯ, которые по обоснованной оценке исследователя связаны друг с

30 другом;

- частота и тип НЯ, приводящих к прекращению исследуемого вмешательства;
- частота и тип инфекций;
- частота и тип НЯ, временно связанных с инфузией;
- частота и тип реакций в месте инъекций.

Сводные данные, списки, наборы данных или рассказы участников могут быть предоставлены, по мере необходимости, относительно тех участников, которые умерли, которые прекратили исследовательское вмешательство из-за НЯ или у которых возникло тяжелое или серьезное НЯ.

5 **Клинические лабораторные анализы**

Для оценки безопасности участников будут использоваться следующие сводные данные по клиническим лабораторным тестам:

- лабораторные параметры и изменение лабораторных параметров относительно исходного уровня (гематология и биохимия);
- 10 • сводные данные по максимальной выраженности токсичности по системе общих терминологических критериев нежелательных явлений, разработанных Национальным институтом рака США (NCI-CTCAE), определяемые по лабораторным показателям, полученным на этапах после исходного уровня (гематология и химия).

Кроме того, будут предоставлены списки участников с двумя или более любыми аномальными лабораторными показателями на этапах после исходного уровня по системе NCI-CTCAE.

15 **Суицидальная направленность мышления и поведение**

Суицидальная направленность мышления и поведение, определяемые по C-SSRS и НЯ будут раскрыты описательно.

20 **Прочие виды анализов**

Фармакокинетические анализы

Описательная статистика концентраций гуселькумаба и устекинумаба в сыворотке будут рассчитывать при каждом отборе проб крови. Данные по этим концентрациям с течением времени будут обобщать по каждой экспериментальной группе.

Все концентрации в сыворотке, находящиеся ниже наименьшей количественно определяемой концентрации, или отсутствие данных будут отмечены как таковые в базе данных по концентрациям или в представлениях данных. Концентрации ниже наименьшей количественно определяемой концентрации в сводной статистике будут рассматриваться как нулевые.

30 Для оценки ФК параметров гуселькумаба будут использовать популяционный фармакокинетический анализ с использованием нелинейной модели смешанных эффектов. Можно оценить влияние важных ковариат на оценки ФК-параметров популяции. Подробная информация будет представлена в плане популяционного ФК-

анализа, а результаты популяционного ФК-анализа будут представлены в отдельном техническом отчете.

Участники будут исключены из ФК-анализа, если их данные не позволяют точно оценить ФК (например, введение неполных доз исследуемого препарата, пропущенное время введения исследуемого препарата). Подробные правила проведения данного анализа будут указаны в SAP.

Анализы иммуногенности

Данные по частоте и титрам антител к гуселькумабу и устекинумабу будут обобщены соответственно для всех участников, которые получают дозу гуселькумаба или устекинумаба и в чьих образцах крови будут найдены антитела соответственно к гуселькумабу или устекинумабу (т. е. участники, у которых по меньшей мере 1 такой образец крови был получен после введения первой дозы гуселькумаба или устекинумаба).

Будет приведен перечень участников с положительным результатом анализа на антитела к гуселькумабу или устекинумабу. Будут зарегистрированы данные по максимальным титрам антител к гуселькумабу или устекинумабу у участников, у которых будут обнаружены антитела к гуселькумабу или устекинумабу.

Данные по частоте появления нейтрализующих антител (NAb) к гуселькумабу или устекинумабу будут обобщенно представлены для субъектов с положительным результатом анализа на антитела к гуселькумабу и устекинумабу, у которых есть пробы для оценки на NAb к гуселькумабу и устекинумабу.

Анализы биомаркеров

Запланированные анализы биомаркеров могут быть отложены, если новые данные исследований не показывают вероятности обнаружения полезной научной информации. Любые пробы биомаркеров, полученные по контрактному договору или спонсором после даты завершения сбора данных, не будут анализироваться и, следовательно, будут исключены из анализа биомаркеров.

Получаемые с течением времени данные по изменениям в анализируемых белках сыворотки крови и в РНК цельной крови будут обобщены по экспериментальным группам. Будут изучены взаимосвязи между исходными и изменившимися уровнями отдельных маркеров и ответов на лечение. Анализы РНК будут обобщены в отдельном техническом отчете.

Анализы биомаркеров будут характеризовать эффекты гуселькумаба путем выявления биомаркеров, связанных с ответом на лечение, и путем определения того,

могут ли эти биомаркеры предсказать реакцию участника на гуселькумаб. Результаты анализов сыворотки крови, цельной крови, стула и биопсии слизистой оболочки будут представлены в отдельных технических отчетах.

Фармакокинетический/фармакодинамический анализы

5 Взаимосвязь между концентрациями гуселькумаба в сыворотке крови и показателями эффективности будет проанализирована с помощью графических инструментов. Если наблюдается какая-либо визуальная тенденция, может быть разработана приемлемая популяционная ФК/ФД модель для описания отношения E-R (модель «сущность-связь»). Подробная информация будет представлена в описании
10 плана ФК/ФД анализа популяции, а результаты ФК/ФД анализа популяции будут представлены в отдельном техническом отчете.

Анализ использования медицинских ресурсов и экономических результатов лечения

15 Использование медицинских ресурсов и экономические результаты лечения, включая производительность труда, будут обобщены по экспериментальным группам.

Пример 2. Результаты фазы 2 исследования GALAXI 1 на неделе 12

Результаты

20 Двести пятьдесят пациентов были включены в популяцию для первичного анализа; около 50% показали отсутствие ответов или непереносимость к биологической терапии, и около 50% показали отсутствие ответов или непереносимость к стандартной терапии. На исходном уровне в экспериментальных группах демографические показатели и показатели болезни были примерно одинаковы (средний возраст — 39,4 года; средний вес — 70,0 кг; средняя продолжительность CD (болезни Крона) — 8,8 года; медианная CDAI — 306,6 балла; медианная PRO-2 — 141,0 балла; медианная
25 SES-CD — 11,0).

30 Значительно большее снижение показателя CDAI по сравнению с исходным уровнем наблюдали на неделе 12 в группе GUS 200, 600 и 1200 мг в/в по сравнению с группой плацебо (снижение составило: -154,1, -144,3, -149,5 против -36,0 балла соответственно), а также более высокая доля пациентов в группах с GUS достигла клинической ремиссии (CDAI < 150 баллов): 54,0%, 56,0%, 50,0% против 15,7% соответственно (таблица 1). Аналогично на неделе 12 более высокая доля пациентов, получавших GUS, достигала клинического ответа, PRO-2 ремиссии, ответа по клиническим показателям и биомаркерам и ответа пациента на лечение, определенного по данным эндоскопии, по сравнению с пациентами, получавшими плацебо. Среди

пациентов Bio-Failure 45,5% (35/77), получавших GUS, и 12,5% (3/24), получавших плацебо, достигли клинической ремиссии на неделе 12; среди пациентов Con-Failure 61,6% (45/73), получавших GUS, и 18,5% (5/27), получавших плацебо, достигли клинической ремиссии на неделе 12;

5 К неделе 12 общая частота выхода участников из исследования была невысока (3,6%), а частота нежелательных событий, связанных с безопасностью, в целом была сбалансирована между экспериментальными группами. Сходное количество пациентов сообщили о НЯ (40,0%, 52,0%, 46,0% и 56,9%), серьезных НЯ (4,0%, 4,0%, 2,0% и 3,9%), инфекциях (10,0%, 14,0%, 14,0% и 17,6%) и серьезных инфекциях (2,0%, 0%, 0% и 0%) в экспериментальных группах с GUS в дозах 200, 600, 1200 мг в/в и плацебо соответственно. К неделе 12 не было зарегистрировано ни одного случая активного ТВ, серьезных реакций гиперчувствительности или злокачественных опухолей.

Биомаркеры

15 Неинвазивные маркеры воспаления, в частности С-реактивный белок (СРБ) и фекальный кальпротектин (FeCal), являются удобными инструментами для клинического ведения пациентов с болезнью Крона; концентрации этих маркеров были измерены у пациентов, участвующих в исследовании Galaxi. Для группы плацебо и объединенной группы, получающей GUS, медианы исходных (BL) концентраций СРБ составляли 4,18 (n = 51) и 5,81 мг/л (n = 150) соответственно, а медианы BL фекального кальпротектина (FeCal) составляли 433,50 (n = 50) и 626,50 мкг/г (n = 146) соответственно. К неделе 12 у пациентов, получавших GUS, наблюдалось большее снижение концентрации СРБ и FeCal по сравнению с группой плацебо. На неделе 12 среднее изменение уровня СРБ (мг/л) от BL уровня составило -2,17 в объединенной группе GUS по сравнению с 0,00 в группе плацебо. На неделе 12 среднее изменение уровня FeCal (мг/л) от BL уровня составило -176,00 в объединенной группе GUS по сравнению с 20,00 в группе плацебо. На неделе 12 доля пациентов с нормализованным уровнем СРБ (≤ 3 мг/л) среди пациентов с аномальным уровнем СРБ в BL составила 35,4% против 19,4% у пациентов в объединенной группе GUS по сравнению группой плацебо соответственно. Доля пациентов с нормализованным уровнем FeCal (\leq 250 мкг/г) среди пациентов с аномальным уровнем FeCal (> 250 мкг/г) в BL составила 33,3% против 27,3% у объединенной группы GUS по сравнению с группой плацебо соответственно (таблица 9).

На неделе 12 ответ по клиническим показателям и биомаркерам был достигнут более высокой долей пациентов, получавших GUS, по сравнению с пациентами,

получавшими плацебо: 48,0% (72/150) против 7,8% (4/51) соответственно. Сходные результаты на неделе 12 были достигнуты в когорте пациентов BIO-Failure (46,1% (35/76) против 8,7% (2/23)) и в когорте CON-Failure (50,0% (37/74) против 7,1% (2/28)).

У пациентов с активной болезнью крона от умеренного до тяжелого течения, которых лечили введением GUS в/в, к неделе 12 наблюдалось большее снижение концентрации СРБ и FeCal по сравнению с теми, кто получал плацебо. Более высокая доля пациентов, получавших GUS, достигла ответа по клиническим показателям и биомаркерам и нормализованного уровня СРБ или FeCal на неделе 12 по сравнению с плацебо. Эти тенденции улучшения также наблюдались при субанализе пациентов, у которых биологическая терапия или традиционная терапия оказались неэффективными.

Выводы

Все 3 дозы GUS (200, 600 и 1200 мг внутривенно) неизменно вызывали значительно более выраженные улучшения по сравнению с плацебо, что определяли по заранее определенным клиническим и эндоскопическим показателям эффективности на неделе 12 у пациентов с активной болезнью Крона от умеренного до тяжелого течения, у которых ранее биологическая или традиционная терапия оказались неэффективными. К неделе 12 GUS продемонстрировал профиль безопасности, соответствующий профилю, установленному в клинических исследованиях на основе исследуемых и утвержденных показаний. Кроме того, на неделе 4 клиническая ремиссия была достигнута у 20,0% пациентов, получавших GUS, по сравнению с 11,8% пациентов, получавших плацебо. К неделе 8 и неделе 12 большая часть пациентов, получавших GUS, достигла клинической ремиссии по сравнению с пациентами, получавшими плацебо: 42,0% против 15,7% и 54,0% против 15,7% соответственно. Точно так же в каждой подгруппе BIO-Failure или CON-Failure пациенты, получавшие GUS, достигли более высокой частоты клинической ремиссии к неделям 4, 8 и 12 по сравнению с группой, получавшей плацебо. Доля пациентов, достигших клинического ответа и ответа по клиническим показателям и биомаркерам к неделям 4, 8 и 12, также была выше среди пациентов, получавших GUS, по сравнению с пациентами, получавшими плацебо. С недели 4 до недели 8 и до недели 12 доля пациентов, получавших GUS, достигших клинического ответа, увеличилась с 44,0% до 56,0% и 66,0% соответственно, а доля пациентов, достигших ответа по клиническим показателям и биомаркерам, увеличилась с 26,0% до 43,3% и до 48,0%. Напротив, доля пациентов, получавших плацебо, которые достигли клинического ответа и ответа по клиническим показателям и биомаркерам, оставалась стабильной или уменьшалась с недели 4 до

недели 8 и до недели 12: от 25,5% до 25,5% до 23,5% и от 13,7% до 9,8% до 7,8%
соответственно

Таблица 1. Анализ эффективности на неделе 12

	Плацебо (контроль)	Гуселькумаб				Устекинумаб ^a (эталон)
		200 мг в/в 1 р/4 нед	600 мг в/в 1 р/4 нед	1200 мг в/в 1 р/4 нед	Объединенные данные	
Анализируемая выборка основных показателей эффективности	51	50	50	50	150	49
Изменение относительно исходного уровня по шкале CDAI N Средние значения по методу наименьших квадратов (80% доверительный интервал (CI) ^{b,c}	49 -36,0 (-53,3, -18,7)	48 -154,1 (- 171,6, - 136,6) p < 0,001	49 -144,3 (- 161,6, -126,9) p < 0,001	47 -149,5 (- 167,3, -131,7) p < 0,001	144 -149,2 (-159,3, - 139,2) p < 0,001	49 -136,2 (-153,8, - 118,7) p < 0,001
Пациенты, достигшие клинической ремиссии ^{c,d,e} n (%)	8 (15,7%)	27 (54,0%) p < 0,001	28 (56,0%) p < 0,001	25 (50,0%) p < 0,001	80 (53,3%) p < 0,001	22 (44,9%)
Пациенты, достигшие клинического ответа ^{c,e,f} n (%)	12 (23,5%)	33 (66,0%) p < 0,001	34 (68,0%) p < 0,001	32 (64,0%) p < 0,001	99 (66,0%) p < 0,001	33 (67,3%)
Пациенты, достигшие PRO-2 ремиссии ^{c,e,g} n (%)	9 (17,6%)	20 (40,0%) p = 0,014	27 (54,0%) p < 0,001	19 (38,0%) p = 0,022	66 (44,0%) p < 0,001	19 (38,8%)
Пациенты, достигшие ответа по клиническим показателям и биомаркерам ^{c,e,h} n (%)	4 (7,8%)	27 (54,0%) p < 0,001	24 (48,0%) p < 0,001	21 (42,0%) p < 0,001	72 (48,0%) p < 0,001	25 (51,0%)
Пациенты, достигшие ответа на лечение, определенного по данным эндоскопии ^{c,e,i} n (%)	6 (11,8%)	18 (36,0%) p = 0,007	20 (40,0%) p = 0,002	18 (36,0%) p = 0,003	56 (37,3%) p < 0,001	15 (30,6%)
Пациенты, достигшие ремиссии, определенной на основе эндоскопического исследования ^{c,e,j} n (%)	2 (3,9%)	6 (16,0%) p = 0,064	5 (10,0%) p = 0,255	8 (16,0%) p = 0,041	21 (14,0%) p = 0,053	7 (14,3%)

^a Устекинумаб ~6 мг/кг (260 мг для пациентов массой ≤ 55 кг; 390 мг для пациентов массой > 55 кг и ≤ 85 кг; 520 мг для пациентов массой > 85 кг) в/в -> 90 мг п/к.

^b Средние значения по методу наименьших квадратов на основе модели смешанного эффекта для повторных измерений.

^c Р-значения при сравнении экспериментальной группы, получающей гуселькумаб, и экспериментальной группы, получающей устекинумаб, с группой, получающей плацебо; р-значения не были скорректированы на множественность.

^d Клиническую ремиссию определяют как показатель CDAI < 150 баллов.

^e Участники, по которым было недостаточно данных для определения статуса ремиссии/ответа на неделе 12, считались не находящимися в состоянии ремиссии/ответа.

^f Клинический ответ определяют как снижение показателя CDAI на ≥ 100 баллов относительно исходного уровня или CDAI < 150 баллов.

^g Ремиссию PRO-2 определяют как среднесуточное количество случаев болей в области живота ≤ 1 и среднесуточную частоту стула ≤ 3.

^h Ответ по клиническим показателям и биомаркерам определяют как клинический ответ и снижение уровня СРБ или фекального кальпротектина на ≥ 50% от исходного уровня.

ⁱ Ответ на лечение, определенный по данным эндоскопии, определяют как улучшение на ≥ 50% по сравнению с исходным уровнем на основе простого эндоскопического индекса активности болезни Крона (SES-CD) или величину показателя по шкале SES-CD ≤ 2.

^j Ответ на лечение, определенный по данным эндоскопии, определяют как величину показателя SES-CD ≤ 2.

Таблица 2. Анализ эффективности на неделе 12 в популяциях BIO-Failure и CON-Failure

	Плацебо (контроль)	Гуселькумаб				Устекинумаб ^a (эталон)
		200 мг в/в 1 р/4 нед	600 мг в/в 1 р/4 нед	1200 мг в/в 1 р/4 нед	Объединенные данные	
Группа BIO-Failure	23	24	24	25	73	26
Группа CON-Failure	26	24	25	22	71	23
Изменение показателя CDAI в группе BIO-Failure по сравнению с исходным показателем N Средние значения по методу наименьших квадратов (LS Mean) (величина отличия от плацебо в LS Mean (80% CI))^{b,c}	23 -27,8	24 -151,1 (123,3 84,8, 161,8) p < 0,001	24 -130,5 (102,6 64,0, 141,3) p < 0,001	24 -134,3 (106,4 68,1, 144,7) p < 0,001	73 -138,5 (110,7 79,3, 142,1) p < 0,001	26 -119,7 (91,9 53,9, 129,9) p = 0,002
Изменение показателя CDAI в группе CON-Failure по сравнению с исходным уровнем CDAI N Средние значения по методу наименьших квадратов (LS Mean) (величина отличия от	26 -43,6	24 -157,0 (113,4 81,6, 145,3) p < 0,001	25 -157,3 (113,7 82,0, 145,4) p < 0,001	22 -165,9 (122,3 89,6, 154,9) p < 0,001	71 -159,8 (116,2 90,6, 141,9) p < 0,001	23 -153,3 (109,7 77,3, 142,1) p < 0,001

плацебо в LS Mean (80% CI) ^{b,c}						
BIO-Failure пациенты, достигшие клинической ремиссии ^{c,d,e} n (%)	3/24 (12,5%)	13/25 (52,0%) p = 0,004	12/25 (48,0%) p = 0,003	10/27 (37,0%) p = 0,052	35/77 (45,5%) p = 0,003	10/26 (38,5%)
CON-Failure пациенты, достигшие клинической ремиссии ^{c,d,e} n (%)	5/27 (18,5%)	14/25 (56,0%) p = 0,006	16/25 (64,0%) p = 0,001	15/23 (65,2%) p = 0,001	45/73 (61,6%) p < 0,001	12/23 (52,2%)
BIO-Failure пациенты, достигшие клинического ответа ^{c,e,f} n (%)	6/24 (25,0%)	16/25 (64,0%) p = 0,007	17/25 (68,0%) p = 0,003	15/27 (55,6%) p = 0,027	48/77 (62,3%) p = 0,002	14/26 (53,8%)
CON-Failure пациенты, достигшие клинического ответа ^{c,e,f} n (%)	6/27 (22,2%)	17/25 (68,0%) p = 0,001	17/25 (68,0%) p < 0,001	17/23 (73,9%) p < 0,001	51/73 (69,9%) p < 0,001	19/23 (82,6%)
BIO-Failure пациенты, достигшие PRO-2 ремиссии ^{c,e,g} n (%)	4/24 (16,7%)	11/25 (44,0%) p = 0,042	15/25 (60,0%) p = 0,001	8/27 (29,6%) p = 0,314	34/77 (44,2%) p = 0,015	8/26 (30,8%)
CON-Failure пациенты, достигшие PRO-2 ремиссии ^{c,e,g} n (%)	5/27 (18,5%)	9/25 (36,0%) p = 0,151	12/25 (48,0%) p = 0,028	11/23 (47,8%) p = 0,029	32/73 (43,8%) p = 0,020	11/23 (47,8%)
BIO-Failure пациенты, достигшие ответа по клиническим показателям и биомаркерам ^{c,e,h} n (%)	2/24 (8,3%)	12/25 (48,0%) p = 0,002	14/25 (56,0%) p < 0,001	10/27 (37,0%) p = 0,017	36/77 (46,8%) p < 0,001	11/26 (42,3%)
CON-Failure пациенты, достигшие ответ по клиническим показателям и биомаркерам ^{c,e,f} n (%)	2/27 (7,4%)	15/25 (60,0%) p < 0,001	10/25 (40,0%) p = 0,006	11/23 (47,8%) p = 0,001	36/73 (49,3%) p < 0,001	14/23 (60,9%)
BIO-Failure пациенты, достигшие ответа на лечение, определенного по данным эндоскопии ^{c,e,i} n (%)	3/24 (12,5%)	8/25 (32,0%) p = 0,127	8/25 (32,0%) p = 0,114	7/27 (25,9%) p = 0,208	23/77 (29,9%) p = 0,088	5/26 (19,2%)
CON-Failure	3/27 (11,1%)	10/25	12/25 (48,0%)	11/23	33/73 (45,2%)	10/23 (43,5%)

пациенты, достигшие ответа на лечение, определенного по данным эндоскопии ^{c,e,i} n (%)		(40,0%) p = 0,024	p = 0,006	(47,8%) p = 0,004	p = 0,002	
ВЮ-Failure пациенты, достигшие ремиссии, определенной на основе эндоскопического исследования ^{c,e} n (%)	2/24 (8,3%)	4/25 (16,0%) p = 0,489	1/25 (4,0%) p = 0,556	3/27 (11,1%) p = 0,749	8/77 (10,4%) p = 0,797	1/26 (3,8%)
CON-Failure пациенты, достигшие ремиссии, определенной на основе эндоскопического исследования ^{c,e} n (%)	0/27 (0,0%)	4/25 (16,0%) p = 0,040	4/25 (16,0%) p = 0,041	5/23 (21,7%) p = 0,010	13/73 (17,8%) p = 0,021	6/23 (26,1%)
<p>^a Устекинумаб ~6 мг/кг (260 мг для пациентов массой ≤ 55 кг; 390 мг для пациентов массой > 55 кг и ≤ 85 кг; 520 мг для пациентов массой > 85 кг) в/в -> 90 мг п/к.</p> <p>^b Средние значения по методу наименьших квадратов на основе модели смешанного эффекта для повторных измерений.</p> <p>^c Р-значения при сравнении экспериментальной группы, получающей гуселькумаб, и экспериментальной группы, получающей устекинумаб, с группой, получающей плацебо; р-значения не были скорректированы на множественность.</p> <p>^d Клиническую ремиссию определяют как показатель CDAI < 150 баллов.</p> <p>^e Участники, по которым было недостаточно данных для определения статуса ремиссии/ответа на неделе 12, считались не находящимися в состоянии ремиссии/ответа.</p> <p>^f Клинический ответ определяют как снижение показателя CDAI на ≥ 100 баллов относительно исходного уровня или CDAI < 150 баллов.</p> <p>^g Ремиссию PRO-2 определяют как среднесуточное количество случаев болей в области живота ≤ 1 и среднесуточную частоту стула ≤ 3.</p> <p>^h Ответ по клиническим показателям и биомаркерам определяют как клинический ответ и снижение уровня СРБ или фекального кальпротектина на ≥ 50% от исходного уровня.</p> <p>ⁱ Ответ на лечение, определенный по данным эндоскопии, определяют как улучшение на ≥ 50% по сравнению с исходным уровнем на основе простого эндоскопического индекса активности болезни Крона (SES-CD) или величину показателя по шкале SES-CD ≤ 2.</p>						

Таблица 3. Исходные демографические данные, характеристики заболеваний, а также анамнез по полученной биологической и традиционной терапии

	Плацибо (контроль)	Гуселькумаб				Устекинумаб ^a (эталон)
		200 мг в/в	600 мг в/в	1200 мг в/в	Объединенные данные	
Анализируемая выборка основных показателей	51	50	50	50	150	49
Исходные демографические данные						
Возраст в годах, среднее ± СО	40,2 (13,31)	41,6 (14,05)	38,8 (14,34)	40,3 (14,05)	40,2 (14,09)	36,1 (12,10)
Мужчины, n (%)	29 (56,9%)	31 (62,0%)	29 (58,0%)	25 (50,0%)	85 (56,7%)	35 (71,4%)
Расовая принадлежность — белые, n (%)	45 (88,2%)	38 (76,0%)	42 (84,0%)	44 (88,0%)	124 (82,7%)	44 (89,8%)
Масса (кг), среднее ± СО	66,78 (17,200)	69,64 (14,725)	68,37 (14,912)	74,41 (20,708)	70,81 (17,096)	71,02 (16,078)
Характеристики заболевания						
Длительность течения болезни Крона (CD), среднее ± СО	8,91 (6,760)	11,70 (13,056)	9,90 (8,662)	6,22 (6,282)	9,27 (9,946)	7,49 (6,161)
Показатель CDAI, среднее ± СО	300,88 (49,911)	307,82 (56,226)	307,08 (58,620)	304,12 (54,262)	306,34 (56,041)	313,45 (61,575)
PRO-2, медианное значение (межквартильный размах (IQR))	144,00 (117,00; 171,00)	145,00 (117,00; 175,00)	136,00 (107,33; 168,00)	142,00 (120,00; 170,00)	140,50 (117,00; 169,00)	140,00 (121,00; 169,00)
Величина по шкале SES-CD, медианный показатель (IQR)	10,00 (7,00; 15,00)	10,00 (7,00; 17,00)	11,00 (7,00; 17,00)	10,00 (6,00; 17,00)	10,00 (6,00; 17,00)	15,00 (7,00; 21,00)
Анамнез получения лекарственных средств для лечения болезни Крона						
Количество Bio- Failure пациентов, n (%)	24 (47,1%)	25 (50,0%)	25 (50,0%)	27 (54,0%)	77 (51,3%)	26 (53,1%)
Пациенты, показавшие отсутствие ответа или непереносимость к лечению с использованием антагонистов к ФНО	23 (45,1%)	25 (50,0%)	25 (50,0%)	27 (54,0%)	77 (51,3%)	26 (53,1%)
Пациенты, показавшие отсутствие ответа или непереносимость к	5 (9,8%)	3 (6,0%)	5 (10,0%)	2 (4,0%)	10 (6,7%)	2 (4,1%)

лечению с использованием ведолизумаба						
Пациенты, показавшие отсутствие ответа или непереносимость как к лечению с использованием антагонистов к ФНО, так и к лечению с использованием ведолизумаба	4 (7,8%)	3 (6,0%)	5 (10,0%)	2 (4,0%)	10 (6,7%)	2 (4,1%)
Количество CON-Failure пациентов, n (%)	27 (52,9%)	25 (50,0%)	25 (50,0%)	23 (46,0%)	73 (48,7%)	23 (46,9%)
Пациенты, не получавшие биологической терапии	17 (33,3%)	22 (44,0%)	21 (42,0%)	22 (44,0%)	65 (43,3%)	17 (34,7%)
^a Устекинумаб ~6 мг/кг в/в -> 90 мг п/к CD = болезнь Крона, SD = стандартное отклонение, IQR = межквартильный диапазон, CDAI = индекс активности болезни Крона, PRO-2 = результаты, о которых сообщают пациенты-2; SES-CD = простой эндоскопический индекс активности болезни Крона						

Результаты фазы 2 исследования GALAXI 1 к неделе 24

- В таблице 4 (ниже) показано распределение пациентов относительно лечения перед неделей 24. На ФИГ. 1 показано среднее изменение показателя CDAI относительно исходного уровня в общей популяции через 24 недели после начала лечения. Во всех экспериментальных группах, получающих гуселькумаб, отмечалось раннее наступление значительного улучшения по сравнению с группой, получавшей плацебо, уже даже на неделе 4 после начала лечения. Аналогичные данные наблюдали и по отношению к достижению клинического ответа и ремиссии в общей популяции и субпопуляциях. На Фиг. 2 и 3 показано среднее изменение показателя CDAI относительно исходного уровня через 24 недели после начала лечения (на Фиг. 2 — BIO-Failure, а на Фиг. 3 — CON-Failure). На Фиг. 4 показаны достижения клинического ответа (измеряемого с помощью CDAI) и клинической ремиссии (измеряемой с помощью CDAI) у пациентов в различных экспериментальных группах к неделе 24.
- Таблицы 5 и 6 (ниже) демонстрируют безопасность гуселькумаба и устекинумаба по сравнению с плацебо на неделе 12 (таблица 5) и неделе 24 (таблица 6).

Таблица 4

	Пла-цебо	Гуселькумаб				UST*	В общей сумме
		200 мг в/в / 100 мг п/к	600 мг в/в / 200 мг п/к	1200 мг в/в / 200 мг п/к	Объединенные данные		
Анализируемая выборка основных показателей эффективности, n	51	50	50	50	150	49	250
Прекращение приема исследуемого препарата до наступления недели 24, n (%)	3 (5,9%)	3 (6,0%)	4 (8,0%)	7 (14,0%)	14 (9,3%)	0	17 (6,8%)
Причина прекращения приема, n (%)							
НЯ – другое	3 (5,9%)	1 (2,0%)	0	3 (6,0%)	4 (2,7%)	0	7 (2,8%)
НЯ – ухудшение течения болезни Крона	0	0	0	0	0	0	0
Летальный исход	0	0	0	0	0	0	0
Прием запрещенного лекарственного средства	0	0	0	0	0	0	0
Отсутствие эффективности	0	1 (2,0%)	1 (2,0%)	0	2 (1,3%)	0	2 (0,8%)
Хирургическое вмешательство, связанное с болезнью Крона	0	0	0	0	0	0	0
Невозможность последующего наблюдения	0	0	0	0	0	0	0
Отклонение от протокола	0	0	0	0	0	0	0
Беременность	0	0	0	0	0	0	0
Прекращение исследования спонсором	0	0	0	0	0	0	0
Пациент, отказавшийся	0	0	0	0	0	0	0

	Пла-	Гуселькумаб				UST*	В общей
от дальнейшего экспериментального лечения							
Пациент, вышедший из исследования	0	1 (2,0%)	3 (6,0%)	4 (8,0%)	8 (5,3%)	0	8 (3,2%)
Другие	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П

Таблица 5. Участники с ≥ 1 нежелательными явлениями, возникшими к неделе 12 лечения

	Гуселькумаб					UST ^a
	Плацебо	200 мг в/в	600 мг в/в	1200 мг в/в	Объединенные данные	
Анализируемая выборка основных показателей безопасности, n	51	50	50	50	150	49
Средняя продолжительность последующего наблюдения, недели	12,3	12,5	12,1	11,9	12,2	12,2
Средний уровень воздействия (количество введенных доз)	3,0	3,0	2,9	2,9	2,9	2,0
НЯ, n (%)	29 (56,9%)	20 (40,0%)	26 (52,0%)	23 (46,0%)	69 (46,0%)	23 (46,9%)
СНЯ, n (%)	2 (3,9%)	2 (4,0%)	2 (4,0%)	1 (2,0%)	5 (3,3%)	3 (6,1%)
НЯ, ведущие к исключению из исследования, n (%)	2 (3,9%)	1 (2,0%)	0	1 (2,0%)	2 (1,3%)	0
Инфекция, ^b n (%)	9 (17,6%)	5 (10,0%)	7 (14,0%)	7 (14,0%)	19 (12,7%)	7 (14,3%)
Тяжелая инфекция ^b , n (%)	0	1 (2,0%)	0	0	1 (0,7%)	0
Инфекция, требующая лечения ^b , n (%)	5 (9,8%)	4 (8,0%)	4 (8,0%)	3 (6,0%)	11 (7,3%)	0

^aUST в дозировке приблизительно 6 мг/кг в/в → 90 мг п/к

^bИнфекция по оценке исследователя

Таблица 6. Участники с ≥ 1 нежелательными явлениями, возникшими к неделе 24 лечения (анализируемая выборка основных показателей эффективности)

5

	Плацебо ^a					UST ^b
		200 мг в/в / 100 мг п/к	600 мг в/в / 200 мг п/к	1200 мг в/в / 200 мг п/к	Объединенные данные	
Анализируемая выборка основных показателей безопасности, n	51	50	50	50	150	49
Средняя продолжительность последующего наблюдения, недели	24,0	23,9	23,5	23,0	23,5	24,3
Средний уровень воздействия (количество введенных доз)	5,1	3,9	5,8	5,6	5,1	3,0
НЯ, n (%)	38 (74,5%)	32 (64,0%)	36 (72,0%)	30 (60,0%)	98 (65,3%)	31 (63,3%)
СНЯ, n (%)	3 (5,9%)	4 (8,0%)	2 (4,0%)	3 (6,0%)	9 (6,0%)	3 (6,1%)
НЯ, ведущие к исключению из исследования, n (%)	3 (5,9%)	2 (4,0%)	0	5 (10,0%)	7 (4,7%)	0
Инфекция^c, n (%)	14 (27,5%)	11 (22,0%)	13 (26,0%)	10 (20,0%)	34 (22,7%)	11 (22,4%)
Тяжелая инфекция^c, n (%)	0	2 (4,0%)	0	1 (2,0%)	3 (2,0%)	0
Инфекция, леченная антибиотиками^c, n (%)	7 (13,7%)	6 (12,0%)	7 (14,0%)	7 (14,0%)	20 (13,3%)	2 (4,1%)

^aПлацебо группа включает всех участников, получающих плацебо, и тех, кто перешел на UST на неделе 12.

^bUST в дозировке приблизительно 6 мг/кг в/в → 90 мг п/к

Инфекция по оценке исследователя

Усталость — распространенный изнуряющий симптом, часто испытываемый пациентами с болезнью Крона. Точная оценка особенностей утомляемости пациента имеет решающее значение, поскольку утомляемость может быть связана с активностью заболевания и отрицательно влиять на качество жизни, связанное со здоровьем. В этом исследовании оценивали психометрические свойства Информационной системы измерения результатов, сообщаемых пациентами (PROMIS), по коротким формам оценки утомляемости Fatigue Short Form 7a (SF-7a) и 4a (SF-4a), которые использовали для оценки у пациентов с Болезнью Крона частоты и тяжести усталости соответственно.

На исходном уровне средние значения \pm стандартное отклонение по шкале PROMIS-Fatigue SF-7a (частота усталости) и SF-4a (степень усталости) составляли $58,8 \pm 8,29$ и $56,9 \pm 9,26$ соответственно. На неделе 12 средние значения по шкале PROMIS-Fatigue SF-7a и SF-4a коррелировали с тенденцией к увеличению тяжести заболевания на неделе 12 по категориями PGIS и квартилям CDAI (ухудшение здоровья), но с тенденцией к снижению общего количества баллов по IBDQ квартилям (улучшение состояния здоровья). Шкалы PROMIS-Fatigue оказались надежными (внутриклассовый коэффициент $\geq 0,77$) и позволяли выявлять изменения тяжести заболевания, оцениваемые с помощью PGIS или PGIC на неделе 12. Шкалы PROMIS-Fatigue также продемонстрировали сильную корреляцию ($r = -0,81$) с пунктом IBDQ «чувство усталости» и слабую корреляцию ($r = -0,25$) с пунктом IBDQ «ректальное кровотечение», что еще раз подтверждает конвергентную и дивергентную валидность. При использовании PGIC в качестве опорной переменной для оценки клинически значимых улучшений от исходного уровня до недели 12 изменение на один уровень (улучшение) за счет «немного лучшего самочувствия» на неделе 12 было связано со снижением количества баллов по шкале PROMIS-Fatigue SF-7a на 4,2 балла и по шкале PROMIS-Fatigue SF-4a на 3,4 балла. Аналогично двухуровневое изменение, определяемое в виде «умеренного улучшения» самочувствия, на неделе 12 было связано со снижением количества баллов по шкалам PROMIS-Fatigue SF-7a и SF-4a: на 5,5 и 6,2 балла соответственно.

Этот психометрический анализ показал, что шкалы PROMIS-Fatigue SF-7a и SF-4a являются достоверными, надежными и чувствительными методами оценки для измерения утомляемости у пациентов с активной болезнью Крона умеренного или

тяжелого течения. Изменение среднего балла по шкале PROMIS-Fatigue от 4 до 6 баллов свидетельствовало о клинически значимом улучшении клинического ответа.

IBDQ представляет собой опросник из 32 пунктов с 4 параметрами: состояние кишечника, эмоциональная функция, системные симптомы и социальная функция.

5 Количество баллов по IBDQ варьируется от 32 до 224, причем более высокие баллы указывают на лучшее качество жизни. Показатели IBDQ оценивали на неделе 8 и неделе 12 неделях на предмет изменения по сравнению с исходным уровнем ответа по шкале IBDQ (определяется как улучшение на ≥ 16 баллов по сравнению с исходным уровнем) и достижения ремиссии по шкале IBDQ (определяется как показатель IBDQ \geq 10 170) для объединенной группы, получающей GUS, и группы, получающей плацебо. UST использовали в качестве эталонного препарата.

Было обследовано 250 пациентов; примерно для 50% из них предыдущая биологическая терапия оказалась неэффективной. В экспериментальных группах демографические характеристики и характеристики заболевания в начале исследования 15 были в основном сходными. Однако между группами наблюдались некоторые различия, наиболее заметные из которых включают несколько меньшую продолжительность заболевания в группе, получавшей GUS в дозировке 1200 мг внутривенно (6,2 года), по сравнению с группой, получавшей GUS в дозировке 200 мг внутривенно (11,7 года), а также более высокий средний исходный общий балл по IBDQ в группе, получавшей GUS в дозировке 600 мг внутривенно (131,4 балла) по 20 сравнению с группой, получавшей плацебо (117,3). Изменения показателей IBDQ на неделе 8 и неделе 12 по сравнению с исходным уровнем представлены в таблице 7. Среднее изменение по сравнению с исходным уровнем общего значения IBDQ и значений каждого из 4 доменов IBDQ было больше у пациентов в объединенной группе 25 GUS по сравнению с группой плацебо.

Доля пациентов, достигших ответа по шкале IBDQ на неделе 8 и неделе 12, была выше в объединенной экспериментальной группе, получавшей GUS, по сравнению с группой плацебо: 66,0% (99/150) и 73,3% (110/150) против 37,3% (19/51) и 41,2% (21/51) соответственно. Аналогичную тенденцию наблюдали по отношению к 30 достижению ремиссии по шкале IBDQ: среди пациентов в экспериментальной группе, получавшей GUS, 44,7% (67/150) и 52,7% (79/150) достигли ремиссии по шкале IBDQ на неделе 8 и неделе 12 соответственно, по сравнению с 17,6% (9/51) и 21,6% (11/51) у пациентов, получавших плацебо. У пациентов, получавших UST, на неделе 8 и неделе 12 85,7% (42/49) и 81,6% (40/49) соответственно достигли ответа на лечение по шкале

IBDQ, а ремиссии по шкале IBDQ достигли 55,1% (27/49) и 46,9% (23/49) пациентов соответственно.

Среди пациентов с активной болезнью Крона умеренного или тяжелого течения пациенты, получавшие начальные дозы GUS (объединенная группа), уже на неделе 8 сообщали о большем улучшении показателей по шкале IBDQ по сравнению с группой, получавшей плацебо. Среди пациентов, получавших GUS, более высокая доля достигала ответа на лечение и ремиссии по шкале IBDQ на неделе 8 и неделе 12, по сравнению с группой, получавшей плацебо, и это преимущество в результатах лечения (как дельта) увеличивалось в период с недели 8 и до недели 12.

10 Таблица 7. Изменение относительно исходного уровня общего количества баллов по шкале IBDQ, а также баллов по каждому домену шкалы IBDQ на неделе 8 и неделе 12

	Плацебо	Объединенная группа, получающая GUS	UST (эталон)
Анализируемая выборка основных показателей, n	49	146	49
Общий балл IBDQ (диапазон: 32–224) Исходное значение, среднее (CO) Среднее изменение LS (по методу наименьших квадратов) на неделе 8 относительно исходного уровня (CI) Среднее изменение LS на неделе 12 относительно исходного уровня (CI)	117,3 (28,01) 14,6 (5,7, 23,5) 14,9 (6,1, 23,8)	125,7 (33,96) 37,5 (32,6, 42,4)* 43,7 (38,7, 48,6)*	127,6 (29,33) 41,8 (33,4, 50,2) 41,8 (33,3, 50,3)
Оценка состояния кишечника (диапазон: 10-70) Исходное значение, среднее (CO) Среднее изменение LS на неделе 8 относительно исходного уровня (CI) Среднее изменение LS на неделе 12 относительно исходного уровня (CI)	37,7 (8,41) 4,8 (2,0, 7,6) 4,6 (1,7, 7,5)	40,2 (9,96) 12,2 (10,7, 13,8)* 14,2 (12,6, 15,8)*	39,1 (8,96) 14,0 (11,3, 16,6) 13,8 (11,0, 16,6)
Оценка эмоциональной функции (диапазон: 12-84) Исходное значение, среднее (CO) Среднее изменение LS на неделе 8 относительно исходного уровня (CI) Среднее изменение LS на неделе 12 относительно исходного уровня (CI)	45,1 (13,31) 4,6 (1,1, 8,0) 5,0 (1,7, 8,3)	48,5 (14,43) 12,5 (10,6, 14,4)* 14,6 (12,7, 16,4)*	51,0 (11,63) 13,4 (10,1, 16,7) 14,0 (10,8, 17,2)
Оценка системных показателей (диапазон: 5-35) Исходное значение, среднее (CO) Среднее изменение LS на неделе 8 относительно исходного уровня (CI) Среднее изменение LS на неделе 12 относительно исходного уровня (CI)	15,1 (4,51) 2,4 (0,8, 4,0) 2,7 (1,1, 4,3)	16,9 (5,83) 6,1 (5,2, 7,0)* 7,4 (6,5, 8,3)*	17,0 (5,62) 6,8 (5,3, 8,3) 6,8 (5,3, 8,3)
Оценка социальной функции (диапазон: 5-35) Исходное значение, среднее (CO) Среднее изменение LS на неделе 8 относительно исходного уровня (CI) Среднее изменение LS на неделе 12 относительно исходного уровня (CI)	19,3 (6,09) 2,6 (0,8, 4,3) 2,4 (0,6, 4,2)	20,1 (7,36) 6,8 (5,8, 7,8)* 7,6 (6,6, 8,6)*	20,4 (7,06) 7,5 (5,9, 9,2) 7,0 (5,3, 8,7)

*Номинальные р-значения: все < 0,001

ПРИМЕЧАНИЕ. Среднее значение LS (CI) для каждой экспериментальной группы и р-значения для сравнения GUS с плацебо были основаны на анализе с моделью смешанных эффектов для повторяющихся измерений (MMRM), включая изменение
 5 общего показателя IBDQ или показателей доменов IBDQ относительно исходного уровня в качестве ответа; В качестве объясняющих переменных выступают экспериментальная группа, посещение, исходный общий показатель IBDQ или исходные показатели доменов IBDQ, статус BIO-Failure (да, нет), исходная
 10 стратификация по CDAI (≤ 300 , > 300), эффект взаимодействия с экспериментальной группой во время посещения и эффект взаимодействия с исходным уровнем показателей доменов IBDQ во время посещения.

Симптоматическая PRO-2 ремиссия представляет собой оценку эффективности лечения, основанную на среднесуточных оценках случаев боли в области живота (отсутствие, легкая, умеренная и сильная) и среднесуточном количестве жидкого или
 15 очень мягкого стула, о которых пациент ежедневно сообщает исследователю. В настоящем отчете представлены изменения относительно исходного уровня боли в области живота (AP), частоты стула (SF) и ремиссии PRO-2 после введения начальных доз GUS по сравнению с использованием PBO (плацебо) в когорте для промежуточного анализа. Ремиссию, определяемую по показателям симптомов AP, SF и PRO-2
 20 (среднесуточная оценка AP на уровне 1 или ниже и среднесуточное количество SF на уровне 3 или ниже, т. е. $AP \leq 1$ и $SF \leq 3$, а также отсутствие ухудшения показателей AP или SF по сравнению с исходным уровнем) оценивали в период с недели 4 и до недели 12 в объединенной группе, получавшей GUS, в сравнении с группой PBO. UST использовали в качестве эталонного препарата. Средняя исходная величина показателя
 25 AP в группе PBO и в объединенной группе, получающей GUS, составила 2,04 и 2,02 соответственно; средняя исходная величина показателя SF в группе PBO и в объединенной группе, получающей GUS, составила 5,51 и 5,27 соответственно. Другие исходные демографические характеристики и характеристики заболевания в экспериментальных группах в целом были сходными.

30 К неделе 12 у пациентов, получавших GUS, наблюдалось большее снижение величины показателей AP и SF по сравнению с пациентами, получавшими PBO. Среднее изменение величины показателя AP на неделях 4, 8 и 12 по сравнению с исходным уровнем у пациентов, получавших GUS, составило -0,63, -0,91 и -1,07 соответственно по сравнению с -0,37, -0,41 и -0,32 у пациентов, получавших PBO.

Среднее изменение величины показателя SF на неделях 4, 8 и 12 по сравнению с исходным уровнем у пациентов, получавших GUS, составило -1,83, -2,46 и -2,77 соответственно по сравнению с -0,82, -0,65 и -0,94 у пациентов, получавших PBO. На неделях 4, 8 и 12 большая доля пациентов, получавших GUS, достигла ремиссии PRO-2 по сравнению с пациентами PBO-группы: 18,0%, 37,3% и 44,0% против 11,8%, 15,7% и 17,6% соответственно. Аналогично в каждой подгруппе пациентов BIO-Failure или CON-Failure большая часть пациентов, получавших GUS, достигла ремиссии PRO-2 к неделям 4, 8 и 12 по сравнению с группой, получавшей плацебо (таблица 8). Доля пациентов, получавших GUS и достигших на неделе 12 ремиссии PRO-2, определяемой по квантилям концентрации GUS в сыворотке крови в объединенной группе, получающей GUS, составила 44,8% для Q1 (< 9,40 мкг/мл), 34,5% для Q2 (9,40 – < 24,72 мкг/мл), 55,2% для Q3 (24,72 – < 44,30 мкг/мл) и 46,7% для Q4 (\geq 44,30 мкг/мл), и, таким образом, не было выявлено взаимосвязи между уровнем воздействия и уровнем ответа.

Пациенты, получавшие GUS, имели более выраженное снижение показателей AP и SF при всех посещениях, имевших место после исходного уровня. Кроме того, ремиссии PRO-2 достигла большая часть пациентов, которые получали начальные дозы препарата по сравнению с пациентами PBO-группы. Для общей популяции, а также для подгрупп BIO-Failure и CON-Failure различия между пациентами, получавшими GUS и PBO, увеличивались с течением времени, при этом большая часть пациентов, получавших GUS, достигала ранней ремиссии PRO-2. Небольшие размеры выборки ограничивают общие выводы для подгрупп. При достижении ремиссии PRO-2 на неделе 12 не наблюдалось взаимосвязи «уровень воздействия-уровень ответа».

Таблица 8. Пациенты, достигшие ремиссии PRO-2 к неделе 12

	PBO	Объединенная группа, получавшая гуселькумаб	Устекинумаб (эталон)
Когорта для промежуточных анализов, n	51	150	49
Пациенты, достигшие ремиссии PRO-2 (общая популяция), n			
Нед 4	6 (11,8%)	27 (18,0%), p = 0,293*	12 (24,5%)
Нед 8	8 (15,7%)	56 (37,3%), p = 0,004*	18 (36,7%)
Нед 12	9 (17,6%)	66 (44,0%), p < 0,001*	19 (38,8%)
Пациенты Bio-Failure, n	23	76	26
Пациенты BIO-Failure, достигшие ремиссии PRO-2			
Нед 4	2 (8,7%)	14 (18,4%)	4 (15,4%)
Нед 8	3 (13,0%)	27 (35,5%)	8 (30,8%)
Нед 12	3 (13,0%)	33 (43,4%)	8 (30,8%)

	PBO	Объединенная группа, получавшая гуселькумаб	Устекинумаб (эталон)
Пациенты Con-Failure, n	28	74	23
Пациенты CON-Failure, достигшие ремиссии PRO-2	4 (14,3%)	13 (17,6%)	8 (34,8%)
Нед 4	5 (17,9%)	29 (39,2%)	10 (43,5%)
Нед 8	6 (21,4%)	33 (44,6%)	11 (47,8%)
Нед 12			

Таблица 9. Доля пациентов с уровнем СРБ ≤ 3 мг/л или FeCal ≤ 250 мкг/г на неделе 12

	Плацебо (контроль)	Гуселькумаб				Устекинумаб ^a (эталон)
		200 мг в/в 1 р/4 нед	600 мг в/в 1 р/4 нед	1200 мг в/в 1 р/4 нед	Объединенные данные	
Популяция для промежуточных анализов	51	50	50	50	150	49
Пациенты с уровнем СРБ ≤ 3 мг/л на неделе 12 ^{b,c}	22 (43,1%)	28 (56,0%)	24 (48,0%)	24 (48,0%)	76 (50,7%)	19 (38,8%)
Скорректированная разница результатов лечения (95% CI) ^d		13,4 (-4,6, 31,4)	5,8 (-12,6, 24,3)	6,5 (-12,2, 25,2)	8,6 (-6,3, 23,5)	
Пациенты с аномальным исходным уровнем СРБ (> 3 мг/л)	31	34	31	31	96	32
Пациенты с аномальным исходным уровнем СРБ (> 3 мг/л), достижение нормализации уровня СРБ (≤ 3 мг/л) на неделе 12 ^{b,c}	6 (19,4%)	15 (44,1%)	9 (29,0%)	10 (32,3%)	34 (35,4%)	8 (25,0%)
Скорректированная разница результатов лечения (95% CI) ^d		22,5 (3,2, 41,7)	11,6 (-8,9, 32,1)	13,7 (-6,2, 33,7)	15,5 (-0,3, 31,3)	
Пациенты с уровнем FeCal ≤ 250 мкг/л на неделе 12 ^{b,c}	16 (31,4%)	24 (48,0%)	21 (42,0%)	22 (44,0%)	67 (44,7%)	20 (40,8%)
Скорректированная разница результатов лечения (95% CI) ^d		17,8 (-0,1, 35,7)	11,6 (-6,4, 29,6)	13,0 (-4,7, 30,7)	13,8 (-0,3, 28,0)	
Пациенты с аномальным исходным уровнем FeCal (> 250 мкг/л)	33	30	37	35	102	36
Пациенты с аномальным исходным уровнем FeCal (> 250 мкг/л), достижение нормализации уровня FeCal (≤ 250 мкг/л) на неделе 12 ^{b,c}	9 (27,3%)	10 (33,3%)	10 (27,0%)	14 (40,0%)	34 (33,3%)	9 (25,0%)
Скорректированная разница результатов лечения (95% CI) ^d		8,1 (-13,5, 29,7)	0,7 (-19,0, 20,5)	11,9 (-8,0, 31,9)	5,9 (-10,7, 22,5)	

^aПациенты, получившие однократную начальную дозу устекинумаба в/в (~ 6 мг/кг в/в) на неделе 0. На неделе 8 пациенты получали одну поддерживающую дозу устекинумаба п/к (90 мг п/к).

^bПациенты, которые до назначенного момента времени анализа сменили сопутствующее лекарственное средство на запрещенное сопутствующее лекарственное средство для лечения болезни Крона, которые подвергались хирургическому вмешательству, связанному с болезнью Крона, или которые прекращали прием исследуемого препарата из-за отсутствия эффективности или из-за НЯ в виде ухудшения болезни Крона, продолжили участвовать в исследовании с перенесенным вперед исходным уровнем, т. е. от назначенного времени анализа. В случае пациентов, прекративших прием исследуемого препарата по каким-либо другим причинам до назначенного момента времени анализа, в исследовании использовали данные, если они были доступны, полученные, начиная с этого назначенного момента времени.

^cПациенты, у которых отсутствовали данные по уровню СРБ на неделе 12, считались не имеющими уровень СРБ ≤ 3 мг/л на неделе 12.

^dДоверительные интервалы для скорректированных различий в результатах лечения были основаны на статистическом тесте Вальда с весовыми значениями, рассчитанными по методу Мантеля-Хензеля, при попарных сравнениях каждой экспериментальной группы, получающей гуселькумаб, с экспериментальной группой, получающей плацебо.

^eПациенты, у которых отсутствовали данные по уровню FeCal на неделе 12, считались не имеющими уровень FeCal ≤ 250 мг/л на неделе 12.

ПЕРЕЧЕНЬ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ

- <210> 1
<211> 5
5 <212> Белок
<213> Homo sapiens
- <400> 1
Asn Tyr Trp Ile Gly
10 1 5
- <210> 2
<211> 17
15 <212> Белок
<213> Homo sapiens
- <400> 2
Ile Ile Asp Pro Ser Asn Ser Tyr Thr Arg Tyr Ser Pro Ser Phe Gln
20 1 5 10 15
Gly
- 25 <210> 3
<211> 8
<212> Белок
<213> Homo sapiens
- 30 <400> 3
Trp Tyr Tyr Lys Pro Phe Asp Val
1 5
- 35 <210> 4
<211> 14
<212> Белок
<213> Homo sapiens
- 40 <400> 4
Thr Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ser Gly Tyr Asp Val His

1 5 10

<210> 5

5 <211> 7

<212> Белок

<213> Homo sapiens

<400> 5

10 Gly Asn Ser Lys Arg Pro Ser

1 5

<210> 6

<211> 11

15 <212> Белок

<213> Homo sapiens

<400> 6

Ala Ser Trp Thr Asp Gly Leu Ser Leu Val Val

20 1 5 10

<210> 7

<211> 117

<212> Белок

25 <213> Homo sapiens

<400> 7

Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Glu

1 5 10 15

30 Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ser Phe Ser Asn Tyr

20 25 30

Trp Ile Gly Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45

Gly Ile Ile Asp Pro Ser Asn Ser Tyr Thr Arg Tyr Ser Pro Ser Phe

35 50 55 60

Gln Gly Gln Val Thr Ile Ser Ala Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys

85 90 95

40 Ala Arg Trp Tyr Tyr Lys Pro Phe Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu

100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

5 <210> 8
<211> 111
<212> Белок
<213> Homo sapiens

10 <400> 8

Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Gly Ala Pro Gly Gln
1 5 10 15

Arg Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ser Gly
15 20 25 30

Tyr Asp Val His Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu
35 40 45

Leu Ile Tyr Gly Asn Ser Lys Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe
50 55 60

20 Ser Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Thr Gly Leu
65 70 75 80

Gln Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Ser Trp Thr Asp Gly
85 90 95

Leu Ser Leu Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
25 100 105 110

Секвенированные аминокислоты тяжелой и легкой цепей гуселькумаба показаны
ниже (определяющие комплементарность области выделены жирным шрифтом, а
вариабельные области подчеркнуты) :

30 **Тяжелая цепь (SEQ ID NO: 9)**

<210> 9
<211> 447
<212> Белок

35 <213> Homo sapiens

<400> 9

Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Glu
40 1 5 10 15

Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ser Phe Ser **Asn Tyr**

20 25 30
Trp Ile Gly Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
Gly Ile Ile Asp Pro Ser Asn Ser Tyr Thr Arg Tyr Ser Pro Ser Phe
 5 50 55 60
Gln Gly Gln Val Thr Ile Ser Ala Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 10 Ala Arg Trp Tyr Tyr Lys Pro Phe Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu
 100 105 110
Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
 115 120 125
 Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys
 15 130 135 140
 Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
 145 150 155 160
 Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
 165 170 175
 20 Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser
 180 185 190
 Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn
 195 200 205
 Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His
 25 210 215 220
 Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val
 225 230 235 240
 Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
 245 250 255
 30 Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu
 260 265 270
 Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
 275 280 285
 Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser
 35 290 295 300
 Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
 305 310 315 320
 Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile
 325 330 335
 40 Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
 340 345 350

Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu
355 360 365

Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
370 375 380

5 Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
385 390 395 400

Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
405 410 415

10 Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
420 425 430

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
435 440 445

Легкая цепь (SEQ ID NO: 10)

15

<210> 10

<211> 217

<212> Белок

<213> Homo sapiens

20

<400> 10

Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Gly Ala Pro Gly Gln
1 5 10 15

25 Arg Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ser Gly
20 25 30

Tyr Asp Val His Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu
35 40 45

30 Leu Ile Tyr Gly Asn Ser Lys Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe
50 55 60

Ser Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Thr Gly Leu
65 70 75 80

Gln Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Ser Trp Thr Asp Gly
85 90 95

35 Leu Ser Leu Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly
100 105 110

Gln Pro Lys Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu
115 120 125

40 Glu Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe
130 135 140

Tyr Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val

145 150 155 160

Lys Ala Gly Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys

165 170 175

Tyr Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser

5

180 185 190

His Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu

195 200 205

Lys Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser

210 215

10

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ лечения пациента с болезнью Крона, включающий введение пациенту антитела к ИЛ-23, причем антитело содержит переменную область легкой цепи и
5 переменную область тяжелой цепи, при этом указанная переменная область легкой цепи содержит:

аминокислотную последовательность определяющей комплементарность области легкой цепи 1 (CDRL1) SEQ ID NO: 4;

аминокислотную последовательность CDRL2 SEQ ID NO: 5; и

10 аминокислотную последовательность CDRL3 SEQ ID NO: 6,

причем указанная переменная область тяжелой цепи содержит:

аминокислотную последовательность определяющей комплементарность области тяжелой цепи 1 (CDRH1) SEQ ID NO: 1;

аминокислотную последовательность CDRH2 SEQ ID NO:2; и

15 аминокислотную последовательность CDRH3 SEQ ID NO:3.

2. Способ по п. 1, в котором антитело вводят внутривенно в начальной дозе, далее внутривенно через 4 недели после первоначальной дозы, внутривенно через 8
20 недель после первоначальной дозы, а также подкожно каждые 4 или 8 недель после дозы, полученной через 8 недель после первоначальной дозы.

3. Способ по п. 2, в котором внутривенная доза выбрана из группы, состоящей из 1200 мг, 600 мг и 200 мг.

25 4. Способ по п. 3, в котором подкожная доза составляет 100 мг или 200 мг.

5. Способ по п. 4, в котором внутривенная доза составляет 1200 мг, а подкожная доза составляет 200 мг каждые 4 недели.

30 6. Способ по п. 4, в котором внутривенная доза составляет 600 мг, а подкожная доза составляет 200 мг каждые 4 недели.

7. Способ по п. 4, в котором внутривенная доза составляет 200 мг, а подкожная доза составляет 100 мг каждые 8 недель.

8. Способ по п. 2, в котором пациент продемонстрировал ответ на лечение антителом и его состояние соответствует клиническому конечному показателю, показанному ниже:

- 5 (i) изменение индекса активности болезни Крона (CDAI) на неделе 12 относительно исходного уровня;
- (ii) клиническая ремиссия на неделе 12, определяемая как CDAI менее ($<$) 150 баллов;
- 10 (iii) клинический ответ на неделе 12, определяемый как снижение показателя CDAI на 100 или более (\geq) баллов относительно исходного уровня или CDAI $<$ 150;
- (iv) ремиссия по сообщаемому пациентом результату (PRO)-2 на неделе 12, определенная на основе среднесуточной частоты стула (SF) и среднесуточной оценки боли в области живота (AP);
- 15 (v) ответ по клиническим показателям и биомаркерам на неделе 12, определяемый с использованием клинического ответа на основе показателя CDAI и снижения относительно исходного уровня количества С-реактивного белка (СРБ) или фекального кальпротектина;
- (vi) ответ на лечение на неделе 12, определенный по данным эндоскопии, на основе простого эндоскопического индекса активности болезни Крона (SES-CD);
- 20 (vii) ремиссия на неделе 12, определенная на основе эндоскопического исследования, на основе простого эндоскопического индекса активности болезни Крона (SES-CD);
- 25 (viii) клиническая ремиссия на неделе 48, определяемая как показатель CDAI $<$ 150 баллов;
- (ix) стойкая клиническая ремиссия на неделе 48, определяемая как показатель CDAI $<$ 150 в большинстве случаев из всех посещений пациентом врача в период с недели 12 и до недели 48;
- 30 (x) клиническая ремиссия без кортикостероидов на неделе 48, определяемая как показатель CDAI $<$ 150 на неделе 48 и отсутствие приема кортикостероидов на неделе 48;
- (xi) PRO-2 ремиссия на неделе 48, определяемая на основе среднесуточной частоты стула (SF) и среднесуточной оценки боли в области живота (AP);

(xii) реакция на усталость на неделе 12, определяемая на основе информационной системы для оценки результатов, сообщаемых пациентом (PROMIS); и

5 (xiii) ответ на лечение на неделе 48, определенный по данным эндоскопии, на основе простого эндоскопического индекса активности болезни Крона (SES-CD).

10 9. Способ по п. 8, в котором клинический (-ие) конечный (-ые) показатель (-и) измеряют через 4, 8, 12, 16, 20, 28, 32, 36, 40, 44 и/или 48 недель после первоначальной дозы.

15 10. Способ по п. 7, в котором антитело находится в композиции, содержащей 7,9% (масс./об.) сахарозы, 4,0 мМ гистидина, 6,9 мМ моногидрата моногидрохлорида L-гистидина; 0,053% (масс./об.) полисорбата 80 в фармацевтической композиции; причем разбавитель представляет собой воду в стандартном состоянии.

20 11. Способ по п. 1, дополнительно включающий введение пациенту одного или более дополнительных лекарственных средств, применяемых для лечения болезни Крона.

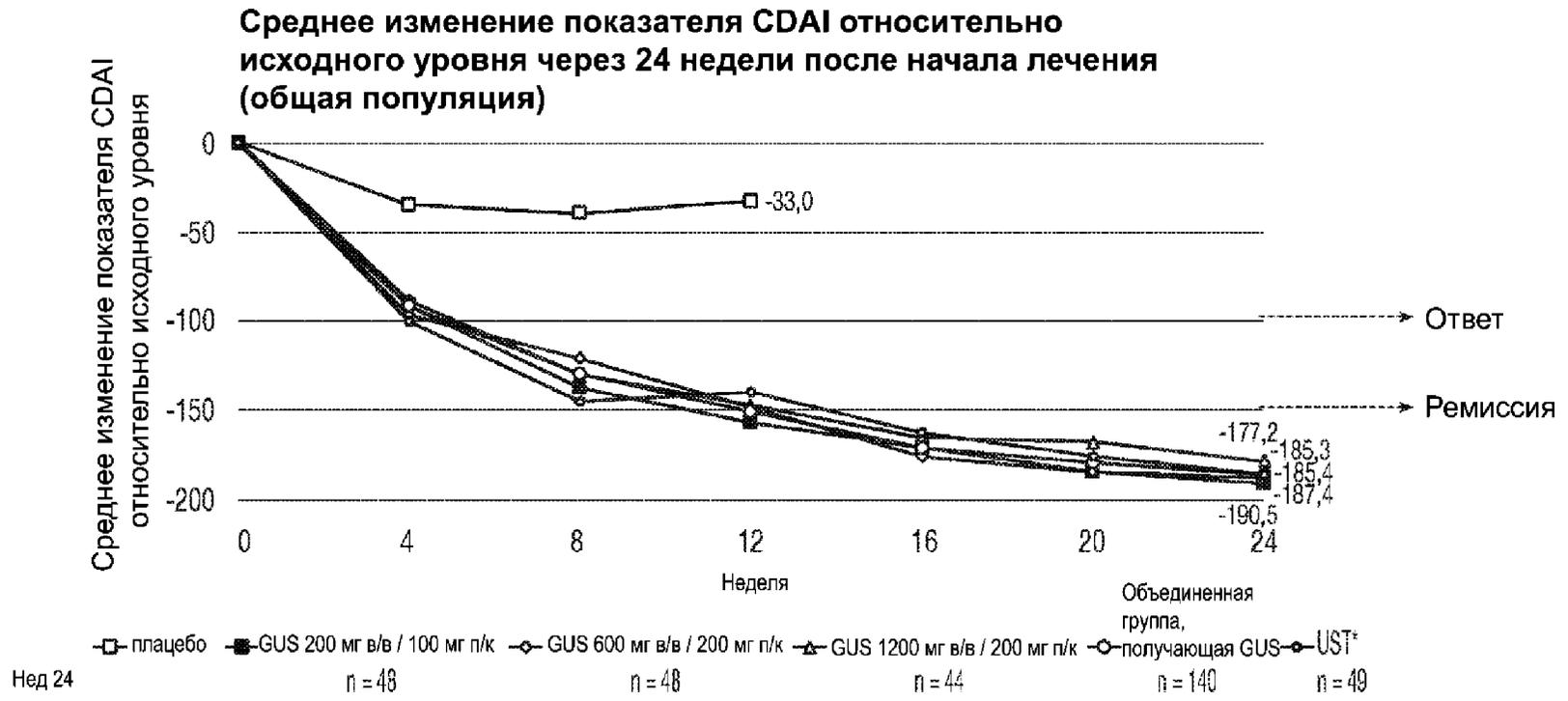
25 12. Способ по п. 11, в котором дополнительное лекарственное средство выбрано из группы, состоящей из: иммуносупрессорных агентов, нестероидных противовоспалительных средств (НПВС), метотрексата (MTX), антител к поверхностному маркеру В-клеток, антител к CD20, ритуксимаба, ингибиторов ФНО, кортикостероидов и костимулирующих модификаторов.

30 13. Способ по п. 1, в котором антитело содержит аминокислотную последовательность вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 8 и аминокислотную последовательность вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 7.

14. Способ по п. 1, в котором антитело содержит аминокислотную последовательность легкой цепи SEQ ID NO: 10 и аминокислотную последовательность тяжелой цепи SEQ ID NO: 9.

15. Способ по п. 1, в котором пациент показывает неэффективность или непереносимость биологической терапии (Bio-Failure) болезни Крона.

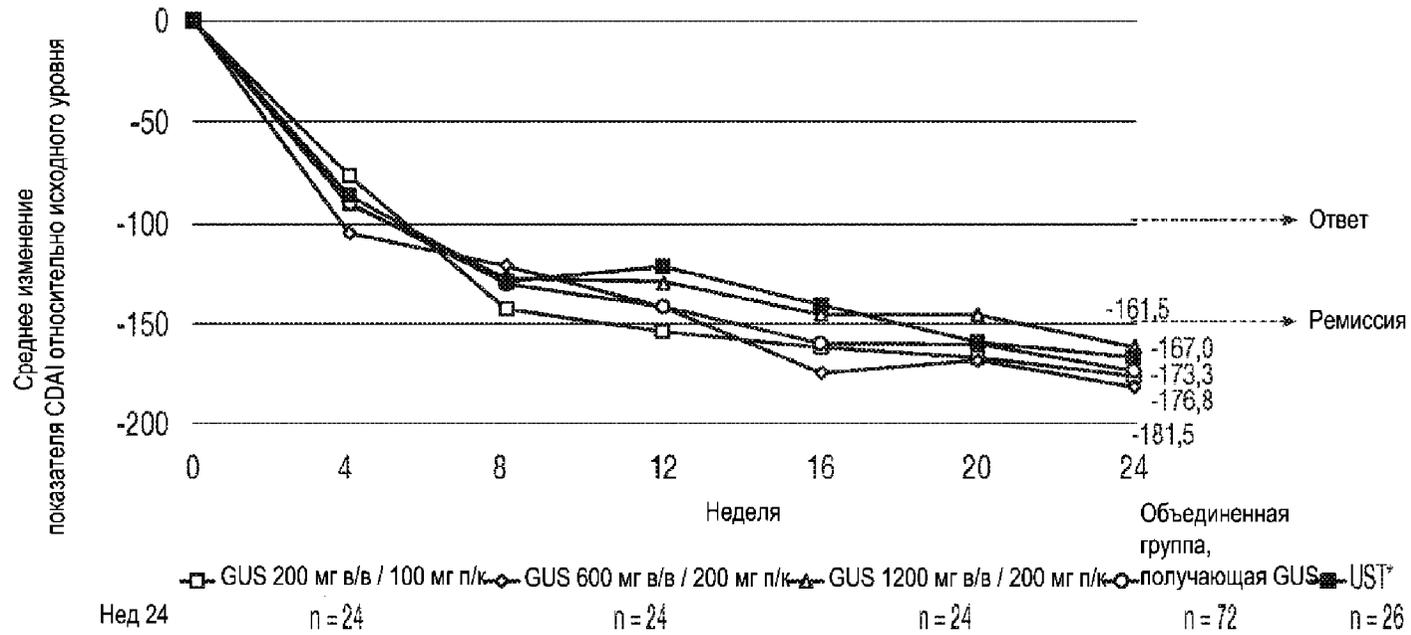
5 16. Способ по п. 1, в котором пациент показывает неэффективность или непереносимость традиционной терапии (Con-Failure) болезни Крона.



*UST в дозировке приблизительно 6 мг/кг в/в → 90 мг п/к

ФИГ. 1

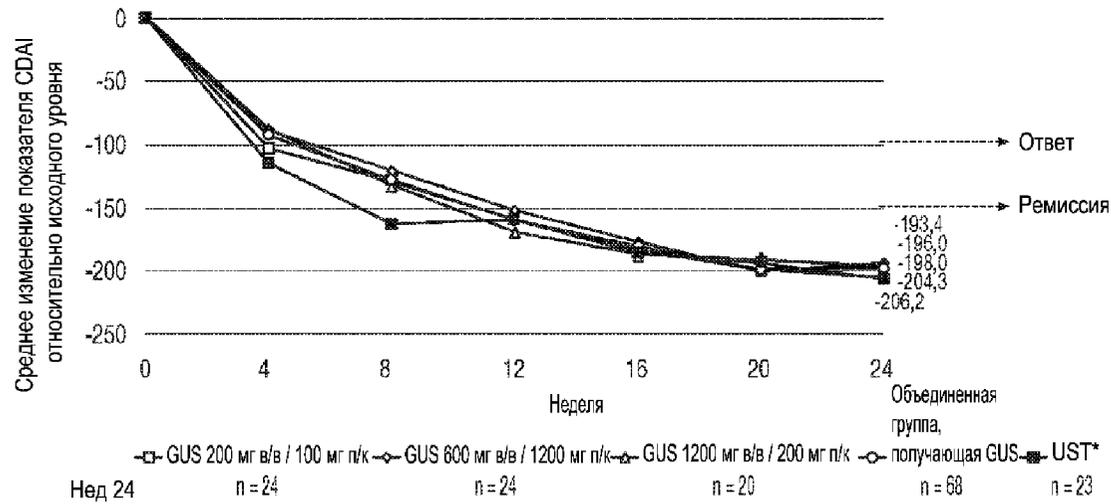
Среднее изменение показателя CDAI относительно исходного уровня через 24 недели после начала лечения (BIO-Failure)



*UST в дозировке приблизительно 6 мг/кг в/в → 90 мг п/к

ФИГ. 2

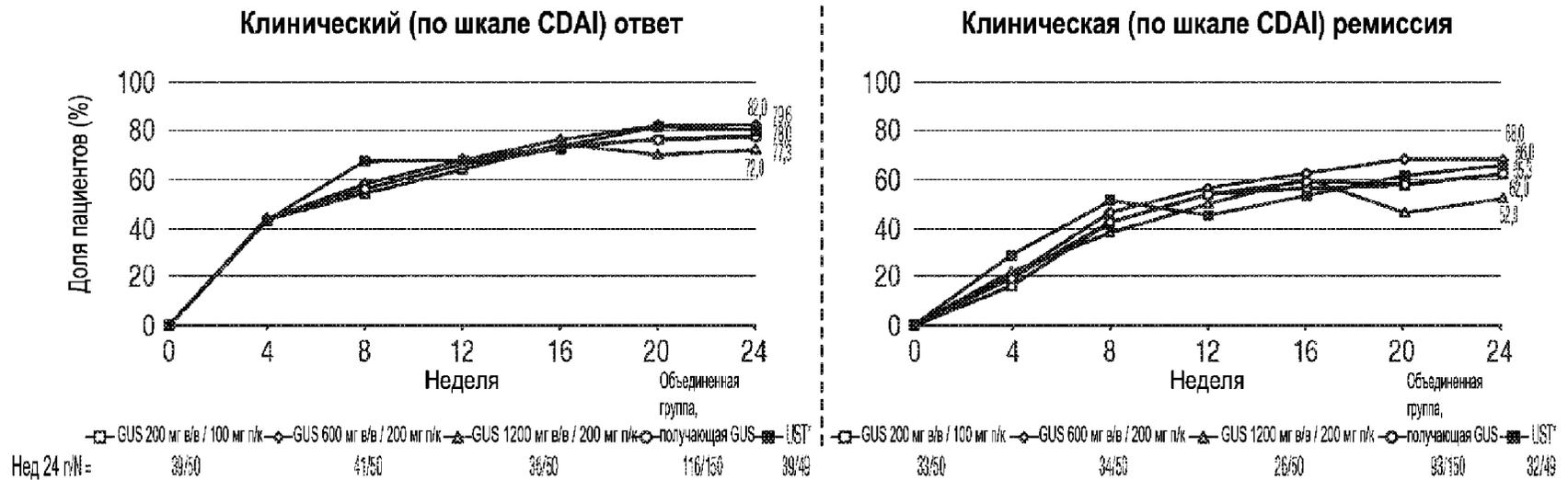
Среднее изменение показателя CDAI относительно исходного уровня через 24 недели после начала лечения (CON-Failure)



*UST в дозировке приблизительно 6 мг/кг в/в → 90 мг п/к

ФИГ. 3

Клинические (по шкале CDAI) ответ и ремиссия через 24 недели после начала лечения (общая популяция)



ФИГ. 4