

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(11) 042589

(13) B1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента
2023.03.02

(21) Номер заявки
201891083

(22) Дата подачи заявки
2016.11.01

(51) Int. Cl. A61K 39/395 (2006.01)
A61K 31/4439 (2006.01)
A61K 31/198 (2006.01)
A61K 31/573 (2006.01)
A61K 31/69 (2006.01)
C07K 16/28 (2006.01)

(54) СОСТАВЫ АНТИТЕЛ К CD38 ДЛЯ ПОДКОЖНОГО ВВЕДЕНИЯ И ИХ ПРИМЕНЕНИЕ

(31) 62/250,016

(32) 2015.11.03

(33) US

(43) 2018.12.28

(86) PCT/US2016/059893

(87) WO 2017/079150 2017.05.11

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
ЯНССЕН БАЙОТЕК, ИНК. (US)

(72) Изобретатель:
Джанссон Ричард, Кумар Винеет (US)

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

(56) US-A1-20150231235
Arthur. Innovations in subcutaneous infusions.
J Infus Nurs. June 2015, 38(3):179-87; Abstract, pg
180, col 2
WO-A2-2009128917

(57) Изобретение относится к составам антител к CD38 для подкожного введения и их применению.

042589 B1

042589 B1

042589

B1

Перечень последовательностей

Настоящая заявка содержит перечень последовательностей, представленный посредством EFS-Web, полное содержание которого полностью включено в настоящий документ путем ссылки. Текстовый файл ASCII, созданный 28 октября 2016 г., имеет название JBI5070USNP_ST25.txt и размер 26 килобайт.

Область применения изобретения

Настоящее изобретение относится к составам антител к CD38 для подкожного введения и их применению.

Предпосылки создания изобретения

CD38 представляет собой многофункциональный белок, функцией которого является опосредованная рецепторами адгезия и сигнализация, а также опосредование мобилизации кальция за счет своей эктоферментативной активности, катализ образования циклической АДФ-рибозы (цАДФР) и АДФР. CD38 опосредует секрецию цитокинов, а также активацию и пролиферацию лимфоцитов (Funaro et al., J Immunol 145:2390-6, 1990; Terhorst et al., Cell 771-80, 1981; Guse et al., Nature 398:70-3, 1999). Благодаря своей НАД-гликогидролазной активности CD38 также регулирует уровни внеклеточного НАД⁺, который задействован в модуляции компартмента регуляторных Т-клеток (Adriouch et al., 14:1284-92, 2012; Chiarugi et al., Nature Reviews 12:741-52, 2012). Помимо сигнализации посредством Ca²⁺ сигнализация CD38 происходит посредством перекрестного обмена с комплексами антиген-рецептор на Т- и В-клетках или рецепторными комплексами других типов, например молекулами главного комплекса гистосовместимости (МНС), с участием CD38 в нескольких клеточных ответах, а также при переключении и секреции IgG1. CD38 экспрессируется на различных злокачественных клетках.

Проводятся исследования антител к CD38 в качестве средств для лечения множественной миеломы и других гемобластозов. Антитела вводят или инфузируют внутривенным (в/в) путем. Количество антитела, которое можно вводить внутривенным путем, ограничено физико-химическими свойствами антитела, в частности его растворимостью и стабильностью в приемлемом жидком составе, а также объемом инфузионной текучей среды.

Таким образом, существует потребность в дополнительных составах и фармацевтических композициях, содержащих антитело к CD38.

Изложение сущности изобретения

В изобретении предложена фармацевтическая композиция, содержащая антитело к CD38 и гиалуронидазу.

В изобретении также предложена фармацевтическая композиция, содержащая антитело к CD38 и гиалуронидазу gHuPH20, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 22.

В изобретении также предложен способ лечения рака у субъекта, включающий введение подкожно нуждающемуся в этом субъекту фармацевтической композиции, содержащей антитело к CD38 и гиалуронидазу, в течение времени, достаточного для лечения рака.

В изобретении также предложен способ лечения CD38-положительной гематологической злокачественной опухоли, включающий введение подкожно нуждающемуся в этом субъекту фармацевтической композиции изобретения в течение времени, достаточного для лечения CD38-положительной гематологической злокачественной опухоли.

В изобретении также предложен способ лечения множественной миеломы, включающий введение подкожно нуждающемуся в этом субъекту фармацевтической композиции изобретения в течение времени, достаточного для лечения множественной миеломы.

В изобретении также предложена единичная дозированная форма, содержащая антитело к CD38, содержащее VH с SEQ ID NO: 4 и VL с SEQ ID NO: 5, в количестве от около 1200 до около 5000 мг;

гиалуронидазу в количестве от около 30000 до около 45 000 Ед;

гистидин в концентрации от около 5 до около 15 mM;

сорбит в концентрации от около 100 до около 300 mM;

PS-20 в концентрации от около 0,01 до около 0,04% мас./об. и

метионин в концентрации от около 1 до около 2 мг/мл, pH около 5,5.

В изобретении также предложена единичная дозированная форма по п.74, содержащая антитело к CD38, содержащее VH с SEQ ID NO: 4 и VL с SEQ ID NO: 5, в количестве около 1800 мг;

гиалуронидазу в количестве около 30000 Ед;

гистидин в концентрации около 10 mM;

сорбит в концентрации около 300 mM;

PS-20 в концентрации около 0,04% мас./об. и

метионин в концентрации около 1 мг/мл,

pH около 5,5.

В изобретении также предложена емкость, содержащая единичную дозированную форму изобретения.

В изобретении также предложена емкость, содержащая фармацевтическую композицию изобретения.

Подробное описание изобретения

Термин "CD38" относится к белку CD38 человека (синонимы: АДФ-рибозилциклаза 1, цАДФ-гидролаза 1, циклическая АДФ-рибозогидролаза 1). CD38 человека имеет аминокислотную последовательность, которая показана в GenBank в порядке поступления NP 001766 и в SEQ ID NO: 1. Хорошо известно, что CD38 представляет собой одноцепочечный белок мембраны типа II с аминокислотными остатками 1-21, представляющими цитозольный домен, аминокислотными остатками 22-42, представляющими трансмембранный домен, и остатками 43-300, представляющими внеклеточный домен CD38.

SEQ ID NO: 1

MANCEFSPVSGDKPCCRLSRRAQLCLGVSILVLILVVVLAVVPRWRQQWSGPGTTTKRF
 PETVLARCVKYTEIHPEMRHVDCQSVWDAFKGAFISKHPCNITEEDYQPLMKLGTQTVPCNKIL
 LWSRIKDLAHQFTQVQRDMFTLEDTLGLYLADDLTWCGEFNTSKINYQSCPDWRKDCSNPNPVS
 FWKTVSRRAEAEACDVVHMLNGSRKIFDKNSTFGSVEVHNLQPEKVQTLAEAWIHGGREDSR
 DLCQDPTIKELESIISKRNIFQSCNKIYRPDKFLQCVKNPEDSSCTSEI

Термин "антитела" подразумевается в широком значении и включает молекулы иммуноглобулинов, в том числе моноклональные антитела, включая мышьиные, человеческие, гуманизированные и химерные моноклональные антитела, антигенсвязывающие фрагменты, биспецифические или мультиспецифические антитела, димерные, тетрамерные или мультимерные антитела, одноцепочечные антитела, доменные антитела и любую другую модифицированную конфигурацию молекулы иммуноглобулина, которая содержит антигенсвязывающий сайт требуемой специфичности. "Полноразмерные антитела" состоят из двух тяжелых (H) цепей и двух легких (L) цепей, взаимно соединенных посредством дисульфидных связей, а также из их мультимеров (например, IgM). Каждая тяжелая цепь состоит из вариабельной области тяжелой цепи (VH) и константной области тяжелой цепи (состоящей из доменов CH1, шарнирной области CH2 и CH3). Каждая легкая цепь состоит из вариабельной области легкой цепи (VL) и константной области легкой цепи (CL). Области VH и VL можно дополнительно подразделить на области гипервариабельности, именуемые областями, определяющими комплементарность (CDR), между которыми располагаются каркасные области (FR). Каждая область VH и VL состоит из трех участков CDR и четырех участков FR, расположенных в направлении от аминоконца к карбоксиконцу в следующем порядке: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3 и FR4.

"Области, определяющие комплементарность (CDR)" представляют в антителе "антигенсвязывающие сайты". CDR можно определять, используя разные термины: (i) определяющие комплементарность области (CDR), три в VH (HCDR1, HCDR2, HCDR3) и три в VL (LCDR1, LCDR2, LCDR3), основаны на вариабельности последовательности (Wu and Kabat, J Exp Med 132:211-50, 1970; Rabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md., 1991); (ii) "гипервариабельные области", HVR или HV, три в VH (H1, H2, H3) и три в VL (L1, L2, L3), относятся к областям вариабельных доменов антитела, которые являются по своей структуре гипервариабельными, согласно определению Chothia и Lesk (Chothia and Lesk, Mol. Biol 196:901-17, 1987). В международной базе данных ImMunoGeneTics (IMGT) ([http://www_imgt_org](http://www.imgt.org)) представлены стандартизированная нумерация и определение антигенсвязывающих сайтов. Соответствие между разграничениями CDR, HV и IMGT описано в Lefranc et al., Dev Comparat Immunol 27:55-77, 2003. Используемые в настоящем документе обозначения CDR, HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3 включают CDR, определенные любым из способов, описанных выше, по Кабату, Чотиа или IMGT, если в данном описании явным образом не указано иное.

В зависимости от аминокислотной последовательности константного домена тяжелой цепи иммуноглобулины могут относиться к пяти основным классам, IgA, IgD, IgE, IgG и IgM. IgA и IgG дополнительно классифицируются на изотипы IgA1, IgA2, IgG1, IgG2, IgG3 и IgG4. Легкие цепи антител любых видов позвоночных можно отнести в зависимости от аминокислотных последовательностей их константных доменов к одному из двух четко отличающихся типов, а именно каппа (κ) и лямбда (λ).

Термин "антигенсвязывающий фрагмент" относится к части молекулы иммуноглобулина, которая сохраняет антигенсвязывающие свойства родительского полноразмерного антитела. Иллюстративными антигенсвязывающими фрагментами являются определяющие комплементарность области тяжелой цепи (HCDR) 1, 2 и/или 3, определяющие комплементарность области легкой цепи (LCDR) 1, 2 и/или 3, вариабельная область тяжелой цепи (VH) или вариабельная область легкой цепи (VL), фрагменты Fab, F(ab')₂, Fd и Fv, а также доменные антитела (dAb), состоящие либо из одного домена VH, либо из одного домена VL. Домены VH и VL могут быть связаны вместе посредством синтетического линкера с образованием различных типов конфигураций одноцепочечных антител, в которых домены VH/VL соединяются в пару внутримолекулярно или межмолекулярно в тех случаях, когда домены VH и VL экспрессируются отдельными цепочками антител с образованием одновалентного антигенсвязывающего сайта, например одноцепочечный Fv (scFv) или диатело; они описаны, например, в международной патентной публикации № WO 1998/44001, международной патентной публикации № WO 1988/01649; международной патентной публикации № WO 1994/13804; международной патентной публикации № WO 1992/01047.

"Моноклональным антителом" называется популяция антител с одинаковым аминокислотным со-

ставом в каждой тяжелой и каждой легкой цепи, за исключением возможных хорошо известных изменений, таких как удаление С-концевого лизина из тяжелой цепи антитела. Моноклональные антитела, как правило, связываются с одним антигенным эпитопом, за исключением мультиспецифических моноклональных антител, которые связываются с двумя или более отличными антигенами или эпитопами. Биспецифические моноклональные антитела связываются с двумя отличными антигенными эпитопами. В пределах популяции антител моноклональные антитела могут иметь гетерогенное гликозилирование. Моноклональное антитело может быть моноспецифическим или мультиспецифическим, или моновалентным, бивалентным или мультивалентным. Термин "моноклональное антитело" включает мультиспецифическое антитело, например биспецифическое антитело или триспецифическое антитело.

Термин "выделенное антитело" означает антитело или антигенсвязывающий фрагмент, которые по существу не содержат других антител, имеющих разные значения антигенной специфичности (например, выделенное антитело, специфически связывающееся с человеческим CD38, по существу не содержит антител, специфически связывающихся с антигенами, отличными от CD38 человека). В случае биспецифического антитела это антитело специфически связывается с двумя представляющими интерес антигенами и по существу не содержит антител, специфически связывающихся с антигенами, отличными от двух представляющих интерес антигенов. Термин "выделенное антитело" включает антитела, выделенные так, чтобы иметь более высокую степень чистоты, такие как антитела, являющиеся чистыми на 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99 или 100%.

Термин "гуманизированные антитела" относится к антителам, у которых антигенсвязывающие сайты получены из видов, отличных от человека, а каркасы переменных областей получены из последовательностей человеческих иммуноглобулинов.

Гуманизированные антитела могут включать намеренно введенные мутации в каркасных областях, в результате чего каркасная область может не являться точной копией экспрессированного человеческого иммуноглобулина или последовательностей генов зародышевой линии.

Термин "человеческие антитела" относится к антителам, имеющим переменные области тяжелой и легкой цепей, в которых как каркасные области, так и антигенсвязывающие сайты получены из последовательностей человеческого происхождения. Если антитело содержит константную область или часть константной области, константная область также получена из последовательностей человеческого происхождения.

Человеческое антитело содержит переменные области тяжелой или легкой цепей, которые получены из последовательностей человеческого происхождения, если переменные области антитела получены из системы, в которой применяется человеческий иммуноглобулин зародышевого типа или перестроенные гены иммуноглобулинов. Такими иллюстративными системами являются библиотеки генов человеческих иммуноглобулинов, отображаемые на фаге, и трансгенные животные, отличные от человека, такие как мыши или крысы, несущие локусы человеческих иммуноглобулинов, как описано в настоящем документе. Человеческое антитело обычно содержит аминокислотные отличия по сравнению с зародышевой линией человека или перестроенные последовательности иммуноглобулинов, обусловленные, например, соматическими мутациями природного происхождения или намеренным введением замен в каркасный или антигенсвязывающий сайт и изменениями аминокислот, введенными во время клонирования и рекомбинации VDJ у животных, отличных от человека. Как правило, человеческое антитело по аминокислотной последовательности по меньшей мере на около 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99 или 100% идентично аминокислотной последовательности, кодируемой геном зародышевой линии человека или перестроенным геном иммуноглобулина. В некоторых случаях человеческое антитело может содержать консенсусные каркасные последовательности, полученные в результате анализов человеческих каркасных последовательностей, например, как описано в Knappik et al., J Mol Biol 296:57-86, 2000, или синтетические HCDR3, включенные в библиотеки генов иммуноглобулинов человека, отображаемые на фаге, например, как описано в Shi et al., J Mol Biol 397:385-96, 2010 и международной патентной публикации № WO 2009/085462.

Антитела, в которых антигенсвязывающие сайты получены от видов, отличных от человека, не подходят под определение антитела человека.

Термин "рекомбинантный" относится к антителам и другим белкам, которые получены, экспрессированы, созданы или выделены рекомбинантными методами.

Термин "эпитоп" означает часть антигена, с которым специфически связывается антитело. Как правило, эпитопы состоят из химически активных (таких как полярные, неполярные или гидрофобные) поверхностных групп компонентов, таких как боковые цепи аминокислот или полисахаридов, и могут иметь конкретные характеристики трехмерной структуры, а также конкретные зарядовые характеристики. Эпитоп может быть образован из непрерывных и/или прерывающихся аминокислот, образующих конформационное пространственное звено. В случае прерывающегося эпитопа аминокислоты из разных частей линейной последовательности антигена подходят близко друг к другу в трехмерном пространстве посредством сворачивания молекулы белка.

Термин "мультиспецифическое" относится к антителу, которое специфически связывается с по меньшей мере двумя разными антигенами или двумя разными эпитопами в пределах одного антигена,

например тремя, четырьмя или пятью разными антигенами или эпитопами.

Термин "биспецифическое" относится к антителу, которое специфически связывается с двумя разными антигенами или двумя разными эпитопами в пределах одного антигена. Биспецифическое антитело может иметь перекрестную реактивность с другими родственными антигенами или может связываться с эпитопом, который является общим для двух или более различных антигенов.

Термин "вариант" относится к полипептиду или полинуклеотиду, который отличается от эталонного полипептида или эталонного полинуклеотида одной или более модификаций, например замен, вставок или делеций.

Выражение "в комбинации с" означает, что два или более терапевтических средства вместе вводят субъекту в смеси, одновременно в виде отдельных агентов или последовательно в виде отдельных агентов в любом порядке.

Выражение "фармацевтическая композиция" относится к продукту, который образован путем комбинирования антитела к CD38 и гиалуронидазы и включает связанные и несвязанные комбинации. Фармацевтическая композиция, как правило, включает фармацевтически приемлемый носитель. Выражение "связанные комбинации" относится к одной фармацевтической композиции, содержащей антитело к CD38 и гиалуронидазу, вводимой одновременно в форме одного элемента или дозы. Выражение "несвязанная комбинация" относится к отдельным фармацевтическим композициям, содержащим антитело к CD38 и гиалуронидазу, или единичным дозированным формам, вводимым в виде отдельных элементов одновременно, параллельно или последовательно без конкретных ограничивающих временных рамок, причем такое введение обеспечивает эффективные концентрации двух соединений в теле субъекта.

Выражение "фармацевтически приемлемый носитель" относится к ингредиенту в фармацевтической композиции, за исключением активного ингредиента, который нетоксичен для субъекта. Фармацевтически приемлемый носитель может включать, без ограничений, буферный раствор, эксципиент, стабилизатор или консервант.

Термины "лечить" или "лечение" относятся к терапевтическому лечению, при котором целью является замедление (уменьшение) нежелательного физиологического изменения или заболевания, такого как развитие или распространение опухоли или опухолевых клеток, или обеспечение благоприятного или желаемого клинического результата в ходе лечения. Преимущественные или желательные клинические результаты включают ослабление симптомов, уменьшение степени заболевания, стабилизацию (т.е. отсутствие ухудшения) состояния заболевания, задержку или замедление прогрессирования заболевания, отсутствие метастазов, облегчение или временное улучшение болезненного состояния и ремиссию (частичную или полную), как обнаруживаемые, так и необнаруживаемые. Термин "лечение" может также означать продление времени жизни по сравнению с ожидаемым при отсутствии лечения субъекта. К требующим лечения относятся субъекты, у которых уже отмечаются нежелательные физиологические изменения или заболевание, а также субъекты, склонные к физиологическим изменениям или заболеванию.

Термин "терапевтически эффективное количество" относится к количеству, эффективному в дозах и в течение периодов времени, необходимых для достижения желаемого терапевтического результата. Терапевтически эффективное количество может изменяться в зависимости от таких факторов, как течение заболевания, возраст, пол и масса тела субъекта, а также от способности терапевтического средства или комбинации терапевтических средств вызывать у субъекта желаемый ответ. Примеры показателей эффективного терапевтического средства или комбинации терапевтических средств включают, например, улучшение самочувствия пациента, снижение в опухолевой нагрузки, прекращение или замедление роста опухоли и/или отсутствие метастазирования раковых клеток в другие участки организма.

Выражение "ингибирует рост" (например, в отношении опухолевых клеток) относится к определяемому снижению роста опухолевых клеток или опухолевой ткани *in vitro* или *in vivo* при приведении их в контакт с терапевтическим средством или комбинацией терапевтических или лекарственных средств по сравнению с ростом таких же опухолевых клеток или опухолевой ткани в отсутствие терапевтического средства или комбинации терапевтических лекарственных средств. Ингибирование роста опухолевой клетки или опухолевой ткани *in vitro* или *in vivo* может составлять по меньшей мере около 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 99 или 100%.

Термин "CD38-положительная гематологическая злокачественная опухоль" относится к гематологической злокачественной опухоли, которая характеризуется наличием опухолевых клеток, экспрессирующих CD38, включая лейкозы, лимфомы и миелому. Примеры таких CD38-положительных гематологических злокачественных опухолей включают В-клеточный лимфобластный лейкоз/лимфому из клеток-предшественников и В-клеточную неходжкинскую лимфому, острый промиелоцитарный лейкоз, острый лимфобластный лейкоз и новообразования из зрелых В-клеток, такие как В-клеточный хронический лимфоцитарный лейкоз (ХЛЛ)/лимфому из малых лимфоцитов (ЛМЛ), В-клеточный острый лимфоцитарный лейкоз, В-клеточный пролимфоцитарный лейкоз, лимфоплазмочитарную лимфому, мантийноклеточную лимфому (МКЛ), фолликулярную лимфому (ФЛ), включая высокодифференцированную, умеренно дифференцированную и низкодифференцированную ФЛ, накожную лимфому из клеток центра фолликула, В-клеточную лимфому маргинальной зоны (типа MALT, узловую и селезеночную), лейкоз ворсистых клеток, диффузную В-крупноклеточную лимфому (DLBCL), лимфому Беркитта (ЛБ), плазмо-

цитому, множественную миелому, плазмочитарный лейкоз, посттрансплантационное лимфопролиферативное расстройство, амилоидоз легкой цепи, макроглобулинемию Вальденстрема, плазмочитарные лейкозы и анапластическую крупноклеточную лимфому (АККЛ).

Термин "около" означает "в пределах приемлемого диапазона ошибки" для конкретного значения, определенного специалистом в данной области, причем ошибка отчасти зависит от того, каким образом измерено или определено это значение, т. е. от ограничений системы измерения. Если в примерах или в других местах описания в контексте конкретного анализа, результата или варианта осуществления явным образом не указано иное, термин "около" означает "в пределах одного стандартного отклонения" в соответствии с практикой, принятой в данной области, или "в диапазоне до 5%" в зависимости от того, что больше.

Фармацевтические композиции

В изобретении предложена фармацевтическая композиция, содержащая антитело к CD38 и гиалуронидазу.

Гиалуронидаза представляет собой фермент, который разлагает гиалуроновую кислоту (ЕС 3.2.1.35) и снижает вязкость гиалуронана во внеклеточной матрице, повышая таким образом проницаемость тканей. Ферментативная активность гиалуронидазы, включая гHuPH20, может быть определена в единицах активности на мл (Ед/мл) или по общей ферментативной активности в конкретном составе (Ед), как дополнительно описано ниже.

гHuPH20 представляет собой рекомбинантную гиалуронидазу (рекомбинантный HYLENEX®) и описана в международной патентной публикации № WO 2004/078140.

В соответствии со стандартным определением одна единица (Ед) ферментативной активности представляет собой количество фермента, которое катализирует реакцию определенного количества субстрата в единицу времени, например один мкмоль или один нмоль субстрата в минуту. Способы определения активности препаратов гиалуронидазы известны в данной области, и активность препаратов гиалуронидазы, как правило, выражают в единицах USP или Единицах (далее "единицы"). Пример способа определения активности можно найти в патенте США № 7767429.

Активность гиалуронидазы отражает способность ферментативно катализировать расщепление гиалуроновой кислоты. В Фармакопее США (USP) XXII издания представлен анализ на гиалуронидазу, в котором активность гиалуронидазы опосредованно определяют путем измерения количества субстрата, представляющего собой гиалуроновую кислоту с более высокой молекулярной массой (или гиалуронан, НА), оставшегося после реагирования фермента с НА в течение 30 мин при 37°C. (USP XXII-NF XVII (1990) 644-645 United States Pharmacopeia Convention, Inc, г. Роквилл, штат Мэриленд). В анализе можно использовать эталонный стандартный раствор для установления относительной активности (в единицах) какой-либо гиалуронидазы. В данной области известны и в настоящем документе описаны анализы *in vitro* для определения активности гиалуронидаз, таких как растворимая гHuPH20. Примеры анализов включают микротурбидиметрический анализ, описанный ниже (см., например, пример 3), который измеряет расщепление гиалуроновой кислоты гиалуронидазой опосредованно путем обнаружения нерастворимого осадка, образованного при связывании нерасщепленной гиалуроновой кислоты с сывороточным альбумином.

Эталонные стандарты можно использовать, например, для построения стандартной кривой с целью определения активности испытуемой гиалуронидазы в единицах.

Фармацевтическая композиция используется для подкожного введения антитела к CD38 субъекту, нуждающемуся в терапии антителом к CD38, такому как субъект, имеющий рак, например CD38-положительную гематологическую злокачественную опухоль. Без стремления к ограничению какой-либо теорией следует отметить, что подкожное введение антитела к CD38 может снижать связанную с инфузией реакцию и обеспечивать более высокие частоты ответа на лечение по сравнению с внутривенным введением антитела к CD38.

В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция представляет собой связанную комбинацию.

В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция представляет собой несвязанную комбинацию.

В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит от около 1 до около 180 мг/мл антитела к CD38.

В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит от около 10 до около 180 мг/мл антитела к CD38.

В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит от около 20 до около 160 мг/мл антитела к CD38.

В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит от около 20 до около 140 мг/мл антитела к CD38.

В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит от около 20 до около 120 мг/мл антитела к CD38.

В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит от около 40 до

В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит около 1800 мг антитела к CD38 и около 30000 Ед гиалуронидазы.

В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит около 1800 мг антитела к CD38 и около 45000 Ед гиалуронидазы.

В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит около 1600 мг антитела к CD38 и около 30000 Ед гиалуронидазы.

В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит около 1600 мг антитела к CD38 и около 45000 Ед гиалуронидазы.

В некоторых вариантах осуществления гиалуронидаза представляет собой gHuPH20, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 22.

В некоторых вариантах осуществления антитело к CD38 в фармацевтической композиции конкурирует за связывание с CD38 с антителом, содержащим вариательную область тяжелой цепи (VH) с SEQ ID NO: 4 и вариательную область легкой цепи (VL) с SEQ ID NO: 5.

В некоторых вариантах осуществления антитело к CD38 в фармацевтической композиции связывается по меньшей мере с областью SKRNIQFSCCKNIYR (SEQ ID NO: 2) и область EKVQTLEAWVIHGG (SEQ ID NO: 3) CD38 человека (SEQ ID NO: 1).

В некоторых вариантах осуществления антитело к CD38 в фармацевтической композиции содержит определяющую комплементарность область 1 тяжелой цепи (HCDR1), HCDR2, HCDR3, определяющую комплементарность область 1 легкой цепи (LCDR1), LCDR2 и LCDR3 с SEQ ID NO: 6, 7 и 8, 9, 10 и 11 соответственно.

В некоторых вариантах осуществления антитело к CD38 в фармацевтической композиции содержит вариательную область тяжелой цепи (VH), которая на 95, 96, 97, 98, 99 или 100% идентична аминокислотной последовательности с SEQ ID NO: 4, и вариательную область легкой цепи (VL), которая на 95, 96, 97, 98, 99 или 100% идентична аминокислотной последовательности с SEQ ID NO: 5.

В некоторых вариантах осуществления антитело к CD38 в фармацевтической композиции содержит VH с SEQ ID NO: 4 и VL с SEQ ID NO: 5.

В некоторых вариантах осуществления антитело к CD38 в фармацевтической композиции содержит тяжелую цепь с SEQ ID NO: 12 и легкую цепь с SEQ ID NO: 13.

SEQ ID NO: 2

SKRNIQFSCCKNIYR

SEQ ID NO: 3

EKVQTLEAWVIHGG

SEQ ID NO: 4

EVQLLESQGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFTFNSFAMSWVRQAPGKGLEWVSA

ISGSGGGTYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYFCAKDK

ILWFGEFVFDYWGQGLTVTVSS

SEQ ID NO: 5

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYD

ASNRRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSELPEDFAVYYCQQRSNWPPTFGQ

GTKVEIK
 SEQ ID NO: 6
 SFAMS
 SEQ ID NO: 7
 AISGSGGGTYADSVKG
 SEQ ID NO: 8
 DKILWFGEPVFDY
 SEQ ID NO: 9
 RASQSVSSYLA
 SEQ ID NO: 10
 DASNRAT
 SEQ ID NO: 11
 QQRSNWPPTF
 SEQ ID NO: 12
 EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAIVSGFTFNSFAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGGTY
 YADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLR AEDTAVYFC AKDKILWFGEPVFDYWGQGLVTVSSA
 STKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSL
 SSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK
 PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH
 QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYP
 SDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNNHTQ
 KSLSLSPGK
 SEQ ID NO: 13
 EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIP
 ARFSGSGSGTDFTLTISSELPEDFAVYYCQQRSNWPPTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDE
 QLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTYSLSSTLTLSKADYE
 KHKVYACEVTHQGLSPVTKSFNRGEC

Другими примерами антител к CD38, которые можно использовать в фармацевтических композициях и способах изобретения, являются

mAb003, содержащее последовательности VH и VL с SEQ ID NO: 14 и 15 соответственно и описанное в патенте США № 7829693. VH и VL mAb003 могут экспрессироваться в виде IgG1/κ;

mAb024, содержащее последовательности VH и VL с SEQ ID NO: 16 и 17 соответственно, описанное в патенте США № 7829693. VH и VL mAb024 могут экспрессироваться в виде IgG1/κ;

MOR-202 (MOR-03087), содержащее последовательности VH и VL с SEQ ID NO: 18 и 19 соответственно, описанное в патенте США № 8088896. VH и VL MOR-202 могут экспрессироваться в виде IgG1/κ; или изатуксимаб, содержащий последовательности VH и VL с SEQ ID NO: 20 и 21 соответственно, описанный в патенте США № 8153765. VH и VL изатуксимаба могут экспрессироваться в виде IgG1/κ.

SEQ ID NO: 14
 QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFSSYAFSWVRQAPGQGLEWMGRVIFFLGIAN
 SAQKFQGRVTITADKSTSTAYMDLSSLRSEDTAVYYCARDDIAALGPFQYWGQGLTVTVSSAS

SEQ ID NO: 15
 DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCRASQGISWLAAYQQKPEKAPKSLIYAASSLQSGVP
 SRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQYNISYPRTFGGGTKVEIK

SEQ ID NO: 16
 EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFSNYWIGWVRQMPGKGLEWMGIIPPHDSAR
 YSPSFQGVTFADKSIATAYLQWSSLKASDTAMYYCARHVGWGSRYWYFDLWGRGTLTVTVSS

SEQ ID NO: 17
 EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAAYQQKPGQAPGLLIYDASNRASGIP
 ARFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFAVYYCQQRSNWPLTFGGGTKVEIK

SEQ ID NO: 18
 QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYYMNWVRQAPGKLEWVSGISGDPSTNY
 YADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRADTAVYYCARDLPLVYTGFAWVGQGLTVTVSS

SEQ ID NO: 19
 DIELTQPPSVSVAPGQTARISCSGDNLRHYYVYVYQQKPGQAPVLIYGDSCRPSGIPE
 RFSGSNSGNTATLTISGTQAEDEADYYCQTYTGASLVFSGGGLKLTVLGQ

SEQ ID NO: 20:
 QVQLVQSGAEVAKPGTSVKLSCKASGYTFTDYWMQWVKRPGQGLEWIGT
 IYPGDGTGYAQKFQKATLTADKSSKTVYMHLSLASEDSAVYYCARGD
 YYGNSLDYWGQGSTVTVSS

SEQ ID NO: 21:
 DIVMTQSHLSMSTSLGDPVSIITCKASQDVSTVVAWYQQKPGQSPRLIYS
 ASYRYIGVPDRFTGSGAGTDFTFTISSVQAEDLAVYYCQHYSPPYTFGG
 GTKLEIK

Другие примеры антител к CD38, которые можно применять в фармацевтических композициях изобретения, представляют собой антитела, описанные в международной патентной публикации № WO 05/103083, международной патентной публикации № WO 06/125640, международной патентной публикации № WO 07/042309, международной патентной публикации № WO 08/047242 или международной патентной публикации № WO 14/178820.

Примером антитела к CD38, которое можно применять в фармацевтических композициях изобретения, является даратумумаб. Даратумумаб содержит аминокислотные последовательности варибельной области тяжелой цепи (VH) и варибельной области легкой цепи (VL), которые показаны в SEQ ID NO: 4 и 5 соответственно, HCDR1, HCDR2 и HCDR3 с SEQ ID NO: 6, 7 и 8 соответственно, LCDR1, LCDR2 и LCDR3 с SEQ ID NO: 9, 10 и 11 соответственно, имеет подтип IgG1/κ и описан в патенте США № 7829693. Аминокислотная последовательность тяжелой цепи даратумумаба показана в SEQ ID NO: 12, а аминокислотная последовательность легкой цепи показана в SEQ ID NO: 13.

В изобретении также предложена фармацевтическая композиция, содержащая антитело к CD38, содержащее VH с SEQ ID NO: 4 и VL с SEQ ID NO: 5, и гиалуронидазу гHuPH20 с SEQ ID NO: 22, причем концентрация антитела к CD38 в фармацевтической композиции составляет около 20 мг/мл.

В изобретении также предложена фармацевтическая композиция, содержащая антитело к CD38, содержащее HCDR1, HCDR2 и HCDR3 с SEQ ID NO: 6, 7 и 8 соответственно, LCDR1, LCDR2 и LCDR3 с SEQ ID NO: 9, 10 и 11 соответственно, и гиалуронидазу гHuPH20 с SEQ ID NO: 22, причем концентрация антитела к CD38 в фармацевтической композиции составляет около 20 мг/мл.

В изобретении также предложена фармацевтическая композиция, содержащая около 1200-1800 мг антитела к CD38, содержащего VH с SEQ ID NO: 4 и VL с SEQ ID NO: 5, и около 30000-45000 Ед гиалуронидазы гHuPH20 с SEQ ID NO: 22, причем концентрация антитела к CD38 в фармацевтической композиции составляет около 20 мг/мл.

В изобретении также предложена фармацевтическая композиция, содержащая около 1800 мг антитела к CD38, содержащего VH с SEQ ID NO: 4 и VL с SEQ ID NO: 5, и около 30000 Ед гиалуронидазы гHuPH20 с SEQ ID NO: 22, причем концентрация антитела к CD38 в фармацевтической композиции составляет около 20 мг/мл.

В изобретении также предложена фармацевтическая композиция, содержащая около 1800 мг антитела к CD38, содержащего VH с SEQ ID NO: 4 и VL с SEQ ID NO: 5, и около 45000 Ед гиалуронидазы гHuPH20 с SEQ ID NO: 22, причем концентрация антитела к CD38 в фармацевтической композиции составляет около 20 мг/мл.

В изобретении также предложена фармацевтическая композиция, содержащая около 1600 мг антитела к CD38, содержащего VH с SEQ ID NO: 4 и VL с SEQ ID NO: 5, и около 30000 Ед гиалуронидазы гHuPH20 с SEQ ID NO: 22, причем концентрация антитела к CD38 в фармацевтической композиции составляет около 20 мг/мл.

В изобретении также предложена фармацевтическая композиция, содержащая около 1600 мг антитела к CD38, содержащего VH с SEQ ID NO: 4 и VL с SEQ ID NO: 5, и около 45000 Ед гиалуронидазы rHuPH20 с SEQ ID NO: 22, причем концентрация антитела к CD38 в фармацевтической композиции составляет около 20 мг/мл.

В изобретении также предложена фармацевтическая композиция, содержащая около 1200 мг антитела к CD38, содержащего VH с SEQ ID NO: 4 и VL с SEQ ID NO: 5, и около 30000 Ед гиалуронидазы rHuPH20 с SEQ ID NO: 22, причем концентрация антитела к CD38 в фармацевтической композиции составляет около 20 мг/мл.

В изобретении также предложена фармацевтическая композиция, содержащая около 1200 мг антитела к CD38, содержащего VH с SEQ ID NO: 4 и VL с SEQ ID NO: 5, и около 45000 Ед гиалуронидазы rHuPH20 с SEQ ID NO: 22, причем концентрация антитела к CD38 в фармацевтической композиции составляет около 20 мг/мл.

SEQ ID NO: 22

MGVLKFKHIFFRSFVKSSGVSQIVFTFLLIPCCLTNFRAPPVIPNVPFLWAWNAPSEF
CLGKFDEPLDMSLFSEFIGSPRINATGQGVTFYVDRLGYYPYIDSTGVTNVGGIPQKISLDQH
LDKAKKIDITFYMPVDNLGMAVIDWEWRPTWARNWKPKDVYKNRSIELVQQNVQLSLTEATEK
AKQEFEEKAGKDFLVETIKLGKLLRPNHLWGYYLFPDCYNHHYKKPGYNGSCFNVEIKRNDLDSW
LWNSTALYPSIYLNLTQQSPVAATLYVRNRVREAIRVSKIPDAKSPLPVFAYTRIVFTDQVLKF
LSQDELVYTFGETVALGASGIVIWGTLIMRSMKSCLLLDNYMETILNPYIINVTLAAKMCSQV
LCQEQGVCIRKNWNSSDYLHLNPDNFAIQLEKGGKFTVRGKPTLEDLEQFSEKFCYSCYSTLSC
KEKADVKTDAVDVCIADGVCIDAFLKPPMETEEPQIFYNASPSTLSATMFIVSILFLIISVA
SL

Антитела к CD38, применяемые в фармацевтических композициях изобретения, могут также быть выбраны *de novo*, например, из библиотеки фагового дисплея, где фаг конструируется таким образом, чтобы экспрессировать иммуноглобулины человека или их участки, такие как Fab, одноцепочечные антитела (scFv) или неспаренные или спаренные вариабельные области антитела (Knappik et al., J Mol Biol 296:57-86, 2000; Krebs et al., J Immunol Meth 254:67-84, 2001; Vaughan et al., Nature Biotechnology 14:309-314, 1996; Sheets et al., PITAS (USA) 95:6157-6162, 1998; Hoogenboom and Winter, J Mol Biol 227:381, 1991; Marks et al., J Mol Biol 222:581, 1991). Вариабельные домены, связывающие CD38, можно изолировать, например, из библиотек фаговых дисплеев, экспрессирующих вариабельные области тяжелой и легкой цепей антитела в виде гибридных белков, слитых с белком оболочки бактериофага pIX, как описано в Shi et al., J. Mol. Biol. 397:385-96, 2010 и в международной патентной публикации № WO 09/085462). Можно проводить скрининг библиотек антител в отношении связывания с внеклеточным доменом CD38 человека, дополнительно характеризовать полученные положительные клоны, из лизатов клонов выделять Fab и впоследствии клонировать в виде полноразмерных антител. Такое применение способов фагового дисплея для выделения антител человека принято в данной области. См., например: патент США № 5223409, патент США № 5403484, патент США № 5571698, патент США № 5427908, патент США № 5580717, патент США № 5969108, патент США № 6172197, патент США № 5885793, патент США № 6521404, патент США № 6544731, патент США № 6555313, патент США № 6582915 и патент США № 6593081.

Антитела можно оценивать в отношении их конкуренции с эталонным антителом, таким как антитело к CD38, содержащее VH с SEQ ID NO: 4 и VL с SEQ ID NO: 5, за связывание с CD38 с применением известных способов *in vitro*. В примере способа клетки CHO, рекомбинантно экспрессирующие CD38, можно инкубировать с немеченым эталонным антителом в течение 15 мин при 4°C с последующим инкубированием с избытком флуоресцентно меченного испытуемого антитела в течение 45 мин при 4°C. После промывания в фосфатно-солевом буферном растворе с бычьим сывороточным альбумином (PBS/BSA) можно проводить измерение флуоресценции проточной цитометрией с помощью стандартных способов. В другом примере способа внеклеточную часть человеческого CD38 можно наносить на поверхность планшета для ELISA. В течение около 15 мин можно добавлять избыток немеченого эталонного антитела, а впоследствии можно добавлять биотинилированные испытуемые антитела. После промывок в PBS/Tween можно выявлять связывание испытуемого биотинилированного антитела с помощью конъюгированного с пероксидазой хрена (HRP) стрептавидина и обнаруживать сигнал с помощью стандартных способов. Очевидно, что в конкурентных анализах эталонное антитело может быть меченым, а испытуемое антитело - немеченым. Испытуемое антитело конкурирует с эталонным антителом, если эталонное антитело ингибирует связывание испытуемого антитела, или испытуемое антитело ингибирует связывание эталонного антитела по меньшей мере на 80%, например 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99 или 100%. Можно дополнительно определять эпитоп испытуемого антитела, например, путем пептидного картирования или посредством анализов с защитой водорода/дейтерия с помощью известных способов, или же посредством определения структуры кристалла.

Антитела, связывающиеся с областью SKRNIQFSCKNYR (SEQ ID NO: 2) и область EK-

VQTLEAWVINGG (SEQ ID NO: 3) CD38 человека (SEQ ID NO: 1), можно получить, например, путем иммунизации мышей пептидами, имеющими аминокислотные последовательности, показанные в SEQ ID NO: 2 и 3, с помощью стандартных способов и описанных в данном документе способов и определения характеристик полученных антител в отношении связывания с пептидами, например, с использованием анализа ELISA или исследования мутагенеза.

В изобретении также предложена фармацевтическая композиция, содержащая антитело к CD38, содержащее последовательности HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3:

- a) VH с SEQ ID NO: 14 и VL с SEQ ID NO: 15;
- b) VH с SEQ ID NO: 16 и VL с SEQ ID NO: 17;
- c) VH с SEQ ID NO: 18 и VL с SEQ ID NO: 19 или
- d) VH с SEQ ID NO: 20 и VL с SEQ ID NO: 21 и гиалуронидазу гHuPH20 с SEQ ID NO: 22.

В изобретении также предложена фармацевтическая композиция, содержащая антитело к CD38, содержащее:

- a) VH с SEQ ID NO: 14 и VL с SEQ ID NO: 15;
- b) VH с SEQ ID NO: 16 и VL с SEQ ID NO: 17;
- c) VH с SEQ ID NO: 18 и VL с SEQ ID NO: 19 или
- d) VH с SEQ ID NO: 20 и VL с SEQ ID NO: 21 и гиалуронидазу гHuPH20 с SEQ ID NO: 22.

Фармацевтические композиции изобретения дополнительно содержат фармацевтически приемлемый носитель. Примерами фармацевтически приемлемых носителей являются растворители, дисперсионные среды, покрытия, антибактериальные и противогрибковые агенты, изотонические и замедляющие всасывание агенты и т.п., которые обладают физиологической совместимостью, такие как соли, буферы, антиоксиданты, сахараиды, водные или неводные носители, консерванты, смачивающие агенты, поверхностно-активные вещества или эмульгирующие агенты или их комбинации.

Примерами буферов, которые можно использовать, являются уксусная кислота, лимонная кислота, муравьиная кислота, янтарная кислота, фосфорная кислота, угольная кислота, яблочная кислота, аспарагиновая кислота, гистидин, борная кислота, трис-буферы, HEPPO и HEPES.

Примерами антиоксидантов, которые можно использовать, являются аскорбиновая кислота, метионин, гидрохлорид цистеина, бисульфат натрия, метабисульфит натрия, сульфит натрия, лецитин, лимонная кислота, этилендиаминтетрауксусная кислота (ЭДТА), сорбит и винная кислота.

Примерами аминокислот, которые можно использовать, являются гистидин, изолейцин, метионин, глицин, аргинин, лизин, L-лейцин, три-лейцин, аланин, глутаминовая кислота, L-треонин и 2-фениламин.

Примерами поверхностно-активных веществ, которые можно использовать, являются полисорбаты (например, полисорбат-20 или полисорбат-80); полиоксамеры (например, полиоксамер 188); Triton; октилглюкозид натрия; лаурил, миристил, линолеил или стеарилсульфобетаин; лаурил, миристил, линолеил или стеарилсаркозин; линолеил, миристил или цетилбетаин;

лаурамидопропил, кокамидопропил, линолеамидопропил, миристамидопропил, пальмидопропил или изостеарамидопропилбетаин (например, лаурамидопропил);

миристамидопропил- пальмидопропил или изостеарамидопропилдиметиламин; натрия метилкокоил или динатрия метилолеилтаурат; и поверхностно-активные вещества серии MONAQUA™ (Mona Industries, Inc., г. Патерсон, штат Нью-Джерси), полиэтиленгликоль, полипропиленгликоль и сополимеры этилен- и пропиленгликоля (например, PLURONICS™ PF68 и т.п.).

Примерами консервантов, которые можно использовать, являются фенол, м-крезол, п-крезол, о-крезол, хлоркрезол, бензиловый спирт, фенолмеркурнитрит, феноксиэтанол, формальдегид, хлорбутанол, хлорид магния, алкилпарабен (метил, этил, пропил, бутил и т.п.), хлорид бензалкония, хлорид бензетония, дегидроацетат натрия и тиомерсал или их смеси.

Примерами сахараидов, которые можно использовать, являются моносахариды, дисахариды, трисахариды, полисахариды, сахарные спирты, восстанавливающие сахара, невосстанавливающие сахара, такие как глюкоза, сахароза, трегалоза, лактоза, фруктоза, мальтоза, декстран, глицерин, декстран, эритрит, глицерин, арабит, силит, сорбит, маннит, мелибиоза, мелезитоза, рафиноза, маннотриоза, стахиоза, мальтоза, лактулоза, мальтулоза, глюцит, мальтит, лактит или изомальтулоза.

Примеры солей, которые можно использовать, представляют собой аддитивные соли и основные аддитивные соли. Кислые аддитивные соли включают соли, полученные из нетоксичных неорганических кислот, такие как соляная, азотная, фосфорная, серная, бромоводородная, иодистоводородная, фосфористая и т.п., а также из нетоксичных органических кислот, таких как алифатические моно- и дикарбоновые кислоты, фенилзамещенные алкановые кислоты, гидроксильные алкановые кислоты, ароматические кислоты, алифатические и ароматические сульфоновые кислоты и т.п. Основные аддитивные соли включают соли, полученные из щелочно-земельных металлов, таких как натрий, калий, магний, кальций и т.п., а также из нетоксичных органических аминов, таких как N,N'-дибензилэтилендиамин, N-метилглюкамин, хлорпрокаин, холин, диэтаноламин, этилендиамин, прокаин и т.п. Примером соли является хлорид натрия.

Количества фармацевтически приемлемого(ых) носителя(ей) в фармацевтических композициях мо-

(PS-20) в концентрации от около 0,01 до около 0,1% мас./об.

В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит полисорбат-20 (PS-20) в концентрации от около 0,01 до около 0,08% мас./об.

В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит полисорбат-20 (PS-20) в концентрации от около 0,01 до около 0,04% мас./об.

В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит полисорбат-20 (PS-20) в концентрации около 0,01% мас./об., 0,02% мас./об., 0,03% мас./об., 0,04% мас./об., 0,05% мас./об., 0,06% мас./об., 0,07% мас./об., 0,08% мас./об., 0,09% мас./об. или 0,1% мас./об.

В изобретении также предложена фармацевтическая композиция, содержащая от около 20 до около 120 мг/мл антитела к CD38, содержащего VH с SEQ ID NO: 4 и VL с SEQ ID NO: 5, в около 25 мМ уксусной кислоты, около 60 мМ хлорида натрия, около 140 мМ маннита и около 0,04% мас./об. полисорбата-20 (PS-20); при pH около 5,5 и

от около 30000 до около 45000 Ед гиалуронидазы в 10 мМ L-гистидина, 130 мМ NaCl, 10 мМ L-метионина, 0,02% полисорбата-80, pH 6,5.

В некоторых вариантах осуществления гиалуронидаза представляет собой gHuPH20 (SEQ ID NO: 22).

В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция представляет собой несвязанную комбинацию.

В изобретении также предложена фармацевтическая композиция, содержащая около 20 мг/мл антитела к CD38, содержащего VH с SEQ ID NO: 4 и VL с SEQ ID NO: 5, в около 25 мМ уксусной кислоты, около 60 мМ хлорида натрия, около 140 мМ маннита и около 0,04% мас./об. полисорбата-20 (PS-20); при pH около 5,5 и

около 30000 Ед гиалуронидазы в 10 мМ L-гистидина, 130 мМ NaCl, 10 мМ L-метионина, 0,02% полисорбата-80, pH 6,5.

В некоторых вариантах осуществления гиалуронидаза представляет собой gHuPH20 (SEQ ID NO: 22).

В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция представляет собой несвязанную комбинацию.

В изобретении также предложена фармацевтическая композиция, содержащая около 20 мг/мл антитела к CD38, содержащего VH с SEQ ID NO: 4 и VL с SEQ ID NO: 5, в около 25 мМ уксусной кислоты, около 60 мМ хлорида натрия, около 140 мМ маннита и около 0,04% мас./об. полисорбата-20 (PS-20); при pH около 5,5 и

около 45000 Ед гиалуронидазы в 10 мМ L-гистидина, 130 мМ NaCl, 10 мМ L-метионина, 0,02% полисорбата-80, pH 6,5.

В некоторых вариантах осуществления гиалуронидаза представляет собой gHuPH20 (SEQ ID NO: 22).

В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция представляет собой несвязанную комбинацию.

В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит гистидин.

В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит гистидин в концентрации от около 1 до около 50 мМ.

В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит гистидин в концентрации от около 5 до около 50 мМ.

В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит гистидин в концентрации от около 5 до около 30 мМ.

В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит гистидин в концентрации от около 5 до около 20 мМ.

В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит гистидин в концентрации от около 5 до около 15 мМ.

В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит гистидин в концентрации от около 5 до около 10 мМ.

В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит гистидин в концентрации около 1 мМ, около 2 мМ, около 3 мМ, около 4 мМ, около 5 мМ, около 6 мМ, около 7 мМ, около 8 мМ, около 9 мМ, около 10 мМ, около 11 мМ, около 12 мМ, около 13 мМ, около 14 мМ, около 15 мМ, около 16 мМ, около 17 мМ, около 18 мМ, около 19 мМ, около 20 мМ, около 21 мМ, около 22 мМ, около 23 мМ, около 24 мМ, около 25 мМ, около 26 мМ, около 27 мМ, около 28 мМ, около 29 мМ, около 30 мМ, около 31 мМ, около 32 мМ, около 33 мМ, около 34 мМ, около 35 мМ, около 36 мМ, около 37 мМ, около 38 мМ, около 39 мМ, около 40 мМ, около 41 мМ, около 42 мМ, около 43 мМ, около 44 мМ, около 45 мМ, около 46 мМ, около 47 мМ, около 48 мМ, около 49 мМ или около 50 мМ.

В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит гистидин в концентрации около 5 мМ.

В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит гистидин в кон-

трации около 100 мМ.

В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит сахарозу в концентрации около 150 мМ.

В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит сахарозу в концентрации около 200 мМ.

В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит сахарозу в концентрации около 250 мМ.

В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит сахарозу в концентрации около 300 мМ.

В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит сахарозу в концентрации около 350 мМ.

В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит сахарозу в концентрации около 400 мМ.

В некоторых вариантах осуществления композиция содержит метионин.

В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит метионин в концентрации от около 0,1 до около 5 мг/мл.

В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит метионин в концентрации от около 0,1 до около 2,5 мг/мл.

В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит метионин в концентрации от около 1 до около 2 мг/мл.

В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит метионин в концентрации около 0,5 мг/мл, около 1 мг/мл, около 1,1 мг/мл, около 1,2 мг/мл, около 1,3 мг/мл, около 1,4 мг/мл, около 1,5 мг/мл, около 1,6 мг/мл, около 1,7 мг/мл, около 1,8 мг/мл, около 1,9 мг/мл, около 2,0 мг/мл, около 2,1 мг/мл, около 2,2 мг/мл, около 2,3 мг/мл, около 2,4 мг/мл, около 2,5 мг/мл, около 2,6 мг/мл, около 2,7 мг/мл, около 2,8 мг/мл, около 2,9 мг/мл, около 3 мг/мл, около 3,5 мг/мл, около 4 мг/мл, около 4,5 мг/мл или около 5 мг/мл.

В некоторых вариантах осуществления рН фармацевтической композиции составляет 5,0-6,0.

В некоторых вариантах осуществления рН фармацевтической композиции составляет 5,3-5,8.

В некоторых вариантах осуществления рН фармацевтической композиции составляет 5,5.

В некоторых вариантах осуществления рН фармацевтической композиции составляет 5,6.

В изобретении также предложена фармацевтическая композиция, содержащая

от около 1 до около 180 мг/мл антитела к CD38;

от около 50 до около 5000 Ед/мл гиалуронидазы

от около 5 до около 50 мМ гистидина и

от около 50 до около 400 мМ сорбита.

В некоторых вариантах осуществления гиалуронидаза представляет собой гНuPH20.

В изобретении также предложена фармацевтическая композиция, содержащая

от около 1 до около 180 мг/мл антитела к CD38;

от около 50 до около 5000 Ед/мл гиалуронидазы;

от около 5 до около 50 мМ гистидина;

от около 50 до около 400 мМ сорбита;

от около 0,01 до около 0,1% PS-20 и

от около 0,1 до около 2,5 мг/мл метионина.

В некоторых вариантах осуществления гиалуронидаза представляет собой гНuPH20.

В изобретении также предложена фармацевтическая композиция, содержащая

от около 100 до около 120 мг/мл антитела к CD38;

от около 50 до около 5000 Ед/мл гиалуронидазы;

около 10 мМ гистидина и

от около 100 до около 300 мМ сорбита.

В некоторых вариантах осуществления гиалуронидаза представляет собой гНuPH20.

В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция дополнительно содержит от около 0,01 до около 0,04% PS-20.

В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция дополнительно содержит от около 1 до около 2 мг/мл метионина.

В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция дополнительно содержит от около 100 до около 200 мМ сахарозы.

В некоторых вариантах осуществления антитело к CD38 содержит

HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3 с SEQ ID NO: 6, 7, 8, 9, 10 и 11 соответственно;

VH и VL с SEQ ID NO: 4 и 5 соответственно и/или

тяжелую цепь и легкую цепь SEQ ID NO: 12 и 13 соответственно.

В некоторых вариантах осуществления антитело к CD38 содержит

VH и VL с SEQ ID NO: 14 и 15 соответственно;

VH и VL с SEQ ID NO: 16 и 17 соответственно;

VH и VL с SEQ ID NO: 18 и 19 соответственно или

VH и VL с SEQ ID NO: 20 и 21 соответственно;

В некоторых вариантах осуществления гиалуронидаза представляет собой гHuPH20 (SEQ ID NO:

22)

В изобретении также предложена фармацевтическая композиция, содержащая

от около 1 до около 180 мг/мл антитела к CD38, содержащего VH и VL с SEQ ID NO: 4 и 5 соответственно;

от около 50 до около 5000 Ед/мл гиалуронидазы;

от около 5 до около 50 мМ гистидина и

от около 50 до около 400 мМ сорбита.

В некоторых вариантах осуществления гиалуронидаза представляет собой гHuPH20.

В изобретении также предложена фармацевтическая композиция, содержащая

от около 1 до около 180 мг/мл антитела к CD38, содержащего VH и VL с SEQ ID NO: 4 и 5 соответственно;

от около 50 до около 5000 Ед/мл гиалуронидазы;

от около 5 до около 50 мМ гистидина;

от около 50 до около 400 мМ сорбита;

от около 0,01 до около 0,1% PS-20 и

от около 0,1 до около 2,5 мг/мл метионина.

В некоторых вариантах осуществления гиалуронидаза представляет собой гHuPH20.

В изобретении также предложена фармацевтическая композиция, содержащая

от около 100 до около 120 мг/мл антитела к CD38, содержащего VH и VL с SEQ ID NO: 4 и 5 соответственно;

от около 50 до около 5000 Ед/мл гHuPH20;

около 10 мМ гистидина;

от около 100 до около 300 мМ сорбита;

от около 0,01 до около 0,04% мас./об. PS-20 и

от около 1 мг/мл до около 2 мг/мл метионина.

В изобретении также предложена фармацевтическая композиция, содержащая

около 100 мг/мл антитела к CD38, содержащего VH и VL с SEQ

ID NO: 4 и 5 соответственно;

около 500 Ед/мл гHuPH20;

около 10 мМ гистидина;

около 300 мМ сорбита;

около 0,04% мас./об. PS-20 и

около 2 мг/мл метионина при pH около 5,5.

В изобретении также предложена фармацевтическая композиция, содержащая

около 120 мг/мл антитела к CD38, содержащего VH и VL с SEQ ID NO: 4 и 5 соответственно;

около 2000 Ед/мл гHuPH20;

около 10 мМ гистидина;

около 300 мМ сорбита;

около 0,04% мас./об. PS-20; и

около 1 мг/мл метионин; при pH около 5,6.

В изобретении также предложена фармацевтическая композиция, содержащая

около 100 мг/мл антитела к CD38, содержащего VH и VL с SEQ ID NO: 4 и 5 соответственно;

около 500 Ед/мл гHuPH20;

около 10 мМ гистидина;

около 300 мМ сорбита и

около 2 мг/мл метионина при pH около 5,5.

В изобретении также предложена фармацевтическая композиция, содержащая

около 100 мг/мл антитела к CD38, содержащего VH и VL с SEQ ID NO: 4 и 5 соответственно;

около 500 Ед/мл гHuPH20;

около 10 мМ гистидина;

около 300 мМ сорбита;

около 0,01% мас./об. PS-20 и

около 2 мг/мл метионина при pH около 5,5.

В изобретении также предложена фармацевтическая композиция, содержащая

около 100 мг/мл антитела к CD38, содержащего VH и VL с SEQ ID NO: 4 и 5 соответственно;

около 500 Ед/мл гHuPH20;

около 10 мМ гистидина;

около 300 мМ сорбита;

около 0,02% мас./об. PS-20 и

около 2 мг/мл метионина при pH около 5,5.

В изобретении также предложена фармацевтическая композиция, содержащая около 100 мг/мл антитела к CD38, содержащего VH и VL с SEQ ID NO: 4 и 5 соответственно; около 500 Ед/мл gHuPH20;

около 10 mM гистидина;

около 300 mM сорбита;

около 0,06% мас./об. PS-20 и

около 2 мг/мл метионина при pH около 5,5.

В изобретении также предложена фармацевтическая композиция, содержащая

около 100 мг/мл антитела к CD38, содержащего VH и VL с SEQ ID NO: 4 и 5 соответственно;

около 50 Ед/мл gHuPH20;

около 10 mM гистидина;

около 300 mM сорбита;

около 0,04% мас./об. PS-20 и

около 1 мг/мл метионина при pH около 5,5.

В изобретении также предложена фармацевтическая композиция, содержащая

около 100 мг/мл антитела к CD38, содержащего VH и VL с SEQ ID NO: 4 и 5 соответственно;

около 500 Ед/мл gHuPH20;

около 10 mM гистидина;

около 300 mM сорбита;

около 0,04% мас./об. PS-20 и

около 1 мг/мл метионина при pH около 5,5.

В изобретении также предложена фармацевтическая композиция, содержащая

около 100 мг/мл антитела к CD38, содержащего VH и VL с SEQ ID NO: 4 и 5 соответственно;

около 2000 Ед/мл gHuPH20;

около 10 mM гистидина;

около 300 mM сорбита;

около 0,04% мас./об. PS-20 и

около 1 мг/мл метионина при pH около 5,5.

В изобретении также предложена фармацевтическая композиция, содержащая

около 100 мг/мл антитела к CD38, содержащего VH и VL с SEQ ID NO: 4 и 5 соответственно;

около 5000 Ед/мл gHuPH20;

около 10 mM гистидина;

около 300 mM сорбита;

около 0,04% мас./об. PS-20 и

около 1 мг/мл метионина при pH около 5,5.

В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция представляет собой связанную комбинацию.

Составы для введения *in vivo* должны быть, по существу, стерильными. Стерильность можно обеспечить, например, путем фильтрации через стерильные фильтрующие мембраны.

Фармацевтические композиции изобретения можно получить известными способами. Например, фармацевтические композиции можно получить, например, путем растворения, суспендирования или эмульгирования антитела к CD38 в стерильной водной среде или масляной среде, традиционно используемой для инъекций.

Введение

Фармацевтические композиции изобретения можно вводить в виде несвязанной комбинации.

Фармацевтические композиции изобретения также можно вводить в виде связанной комбинации, например в виде единичной дозированной формы (или дозированной единичной форме). Связанные комбинации могут быть преимущественными в связи с простотой введения и однородностью дозы.

В изобретении также предлагается единичная дозированная форма, содержащая антитело к CD38, содержащее VH с SEQ ID NO: 4 и VL с SEQ ID NO: 5, в количестве от около 1200 до около 5000 мг, а gHuPH20 в количестве от около 30000 до около 75000 Ед.

В изобретении также предлагается единичная дозированная форма, содержащая антитело к CD38, содержащее VH с SEQ ID NO: 4 и VL с SEQ ID NO: 5, в количестве от около 1200 до около 4000 мг, а gHuPH20 в количестве от около 30000 до около 75000 Ед.

В изобретении также предлагается единичная дозированная форма, содержащая антитело к CD38, содержащее VH с SEQ ID NO: 4 и VL с SEQ ID NO: 5, в количестве от около 1200 до около 2400 мг, а gHuPH20 в количестве от около 30000 до около 45000 Ед.

В изобретении также предлагается единичная дозированная форма, содержащая антитело к CD38, содержащее VH с SEQ ID NO: 4 и VL с SEQ ID NO: 5, в количестве от около 1200 до около 1800 мг, а gHuPH20 в количестве от около 30000 до около 45000 Ед.

В изобретении также предложена единичная дозированная форма, содержащая антитело к CD38, содержащее VH с SEQ ID NO: 4 и VL с SEQ ID NO: 5, в количестве от около 1200 до около 5000 мг;

гHuPH20 в количестве от около 30000 до около 75000 Ед;
гистидин в концентрации от около 5 до около 15 mM;
сорбит в концентрации от около 100 до около 300 mM;
PS-20 в концентрации от около 0,01% до около 0,04% мас./об. и
метионин в концентрации от около 1 до около 2 мг/мл, pH около 5,5.

В изобретении также предложена единичная дозированная форма, содержащая антитело к CD38, содержащее VH с SEQ ID NO: 4 и VL с SEQ ID NO: 5, в количестве от около 1200 до около 2400 мг;

гHuPH20 в количестве от около 30000 до около 45000 Ед;
гистидин в концентрации около 10 mM;
сорбит в концентрации около 300 mM;
PS-20 в концентрации около 0,04% мас./об. и
метионин в концентрации от около 1 мг/мл; pH около 5,5.

В изобретении также предложена единичная дозированная форма, содержащая антитело к CD38, содержащее VH с SEQ ID NO: 4 и VL с SEQ ID NO: 5, в количестве от около 1200 до около 1800 мг;

гHuPH20 в количестве от около 30000 до около 45000 Ед;
гистидин в концентрации около 10 mM;
сорбит в концентрации около 300 mM;
PS-20 в концентрации около 0,04% мас./об. и
метионин в концентрации от около 1 мг/мл; pH около 5,5.

В изобретении также предложена единичная дозированная форма, содержащая антитело к CD38, содержащее VH с SEQ ID NO: 4 и VL с SEQ ID NO: 5, в количестве от около 1200 до около 1800 мг;

гHuPH20 в количестве от около 30000 до около 45000 Ед;
гистидин в концентрации от около 5 до около 15 mM;
сорбит в концентрации от около 100 до около 300 mM;
PS-20 в концентрации от около 0,01 до около 0,04% мас./об.; и
метионин в концентрации от около 1 до около 2 мг/мл, pH около 5,5.

В изобретении также предложена единичная дозированная форма, содержащая антитело к CD38, содержащее VH с SEQ ID NO: 4 и VL с SEQ ID NO: 5, в количестве около 1800 мг;

гHuPH20 в количестве около 30000 Ед;
гистидин в концентрации около 10 mM;
сорбит в концентрации около 300 mM;
PS-20 в концентрации около 0,04% мас./об. и
метионин в концентрации от около 1 мг/мл; pH около 5,5.

В изобретении также предложена единичная дозированная форма, содержащая антитело к CD38, содержащее VH с SEQ ID NO: 4 и VL с SEQ ID NO: 5, в количестве около 1800 мг;

гHuPH20 в количестве около 45000 Ед;
гистидин в концентрации около 10 mM;
сорбит в концентрации около 300 mM;
PS-20 в концентрации около 0,04% мас./об. и
метионин в концентрации от около 1 мг/мл; pH около 5,5.

Фармацевтическую композицию изобретения можно вводить в общем объеме около 80 мл, 90 мл, 100 мл, 110 мл или 120 мл.

Фармацевтическую композицию изобретения можно вводить в общем объеме около 10 мл, 11 мл, 12 мл, 13 мл, 14 мл, 15 мл, 16 мл, 17 мл, 18 мл, 19 мл, 20 мл, 25 мл, 30 мл, 35 мл, 40 мл, 45 мл, 50 мл, 55 мл, 60 мл, 65 мл, 70 мл, 75 мл, 80 мл, 85 мл, 90 мл, 95 мл, 100 мл, 105 мл, 110 мл, 115 мл или 120 мл.

Фармацевтическую композицию изобретения можно вводить в общем объеме около 10 мл.

Фармацевтическую композицию изобретения можно вводить в общем объеме около 15 мл.

Фармацевтическую композицию изобретения можно вводить в общем объеме около 20 мл.

Общий объем введения может быть, как правило, меньше в случае связанных комбинаций по сравнению с несвязанными комбинациями.

В изобретении также предложена емкость, содержащая фармацевтическую композицию изобретения.

В изобретении также предложена емкость, содержащая единичную дозированную форму изобретения.

Емкость может представлять собой флакон, кассету, шприц, предварительно заполненный шприц или одноразовую шприц-ручку.

Введение фармацевтических композиций изобретения можно повторять через одни сутки, двое суток, трое суток, четверо суток, пять суток, шесть суток, одну неделю, две недели, три недели, четыре недели, пять недель, шесть недель, семь недель, два месяца, три месяца, четыре месяца, пять месяцев, шесть месяцев или более. Кроме того, возможны повторные курсы лечения в виде длительного введения. Повторное введение можно проводить в той же дозе или в другой дозе. Например, фармацевтические композиции изобретения можно вводить один раз в неделю в течение восьми недель с последующим введением один раз в две недели в течение 16 недель с последующим введением один раз в четыре недели.

Фармацевтическую композицию изобретения можно вводить подкожно.

Фармацевтическую композицию изобретения можно вводить подкожно в область живота.

Подкожное введение можно выполнять с помощью устройства. Устройство может представлять собой шприц, предварительно заполненный шприц, автоинжектор (одноразовый или многоразовый), шприц-ручку, автоинжектор в виде пластыря, нательный автоинжектор или амбулаторный шприцевой инфузионный насос с подкожными инфузионными системами.

В случае несвязанных комбинаций 20 мг/мл антитела к CD38 в 25 mM ацетата натрия, 60 mM хлорида натрия, 140 mM D-маннита, 0,04% полисорбата-20, pH 5,5, можно смешать с 1 мг/мл (75-150 кЕд/мл) gHuPH20 в 10 mM L-гистидина, 130 mM NaCl, 10 mM L-метионина, 0,02% полисорбата-80, pH 6,5, перед введением смеси субъекту.

Фармацевтические композиции изобретения можно также вводить профилактически, чтобы снизить риск развития рака, замедлить начало развития событий при прогрессировании рака и/или снизить риск рецидива в случае ремиссии рака. Это может быть особенно полезно для пациентов, у которых сложно локализовать опухоль, наличие которой установлено на основании других биологических факторов.

Способы лечения

В изобретении также предложен способ лечения рака, включающий введение нуждающемуся в этом субъекту фармацевтической композиции изобретения в течение времени, достаточного для лечения рака.

В некоторых вариантах осуществления рак представляет CD38-положительную гематологическую злокачественную опухоль.

В некоторых вариантах осуществления CD38-положительная гематологическая злокачественная опухоль представляет собой множественную миелому.

В некоторых вариантах осуществления CD38-положительная гематологическая злокачественная опухоль представляет собой диффузную В-крупноклеточную лимфому (DLBCL).

В некоторых вариантах осуществления CD38-положительная гематологическая злокачественная опухоль представляет собой неходжкинскую лимфому.

В некоторых вариантах осуществления CD38-положительная гематологическая злокачественная опухоль представляет собой острый лимфобластный лейкоз (ОЛЛ).

В некоторых вариантах осуществления CD38-положительная гематологическая злокачественная опухоль представляет собой фолликулярную лимфому (ФЛ).

В некоторых вариантах осуществления CD38-положительная гематологическая злокачественная опухоль представляет собой лимфому Беркитта (ЛБ).

В некоторых вариантах осуществления CD38-положительная гематологическая злокачественная опухоль представляет собой мантийноклеточную лимфому (МКЛ).

В некоторых вариантах осуществления CD38-положительная гематологическая злокачественная опухоль представляет собой амилоидоз легкой цепи (АЛЦ).

В некоторых вариантах осуществления CD38-положительная гематологическая злокачественная опухоль представляет собой множественную миелому, острый лимфобластный лейкоз (ОЛЛ), неходжкинскую лимфому, диффузную В-крупноклеточную лимфому (DLBCL), лимфому Беркитта (ЛБ), фолликулярную лимфому (ФЛ) или мантийноклеточную лимфому (МКЛ).

Примеры В-клеточных неходжкинских лимфом представляют собой лимфогранулематоз, первичную выпотную лимфому, внутрисосудистую В-крупноклеточную лимфому, средостенную В-крупноклеточную лимфому, заболевания тяжелых цепей (включая γ -, μ - и α -цепи), лимфомы, индуцированные терапией иммуносупрессорными средствами, такие как лимфома, вызванная циклоспорином, и лимфома, вызванная метатрексатом.

В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой солидную опухоль.

В изобретении также предложен способ лечения CD38-положительной гематологической злокачественной опухоли, включающий введение нуждающемуся в этом субъекту фармацевтической композиции, содержащей антитело к CD38 и гиалуронидазу, подкожно в течение времени, достаточного для лечения CD38-положительной гематологической злокачественной опухоли, причем концентрация антитела к CD38 в фармацевтической композиции составляет около 20 мг/мл.

В изобретении также предложен способ лечения CD38-положительной гематологической злокаче-

около 20 мг/мл антитела к CD38, содержащего VH с SEQ ID NO: 4 и VL с SEQ ID NO: 5, в около 25 мМ уксусной кислоты, около 60 мМ хлорида натрия, около 140 мМ маннита и около 0,04% мас./об.

полисорбата-20 (PS-20); при pH около 5,5; и

около 45000 Ед гиалуронидазы в 10 мМ L-гистидина, 130 мМ NaCl, 10 мМ L-метионина, 0,02% полисорбата-80, pH 6,5.

В некоторых вариантах осуществления гиалуронидаза представляет собой гHuPH20.

В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция представляет собой несвязанную комбинацию.

В изобретении также предложен способ лечения CD38-положительной гематологической злокачественной опухоли, включающий введение нуждающемуся в этом субъекту фармацевтической композиции, содержащей антитело к CD38, содержащее VH с SEQ ID NO: 4 и VL с SEQ ID NO: 5, и гиалуронидазу, причем фармацевтическая композиция представляет собой связанную комбинацию.

В изобретении также предложен способ лечения CD38-положительной гематологической злокачественной опухоли, включающий введение нуждающемуся в этом субъекту фармацевтической композиции, содержащей

от около 1 мг/мл до около 180 мг/мл антитела к CD38, содержащего VH и VL с SEQ ID NO: 4 и 5 соответственно;

от около 50 Ед/мл до около 5000 Ед/мл гиалуронидазы

от около 5 мМ до около 50 мМ гистидина; и

от около 50 мМ до около 400 мМ сорбита.

В некоторых вариантах осуществления гиалуронидаза представляет собой гHuPH20.

В изобретении также предложен способ лечения CD38-положительной гематологической злокачественной опухоли, включающий введение нуждающемуся в этом субъекту фармацевтической композиции, содержащей

от около 1 мг/мл до около 180 мг/мл антитела к CD38, содержащего VH и VL с SEQ ID NO: 4 и 5 соответственно;

от около 50 Ед/мл до около 5000 Ед/мл гиалуронидазы

от около 5 мМ до около 50 мМ гистидина;

от около 50 мМ до около 400 мМ сорбита;

от около 0,01% мас./об. до около 0,1% PS-20; и

от около 0,1 мг/мл до около 2,5 мг/мл метионина.

В некоторых вариантах осуществления гиалуронидаза представляет собой гHuPH20.

В изобретении также предложен способ лечения CD38-положительной гематологической злокачественной опухоли, включающий введение нуждающемуся в этом субъекту фармацевтической композиции, содержащей

от около 100 мг/мл до около 120 мг/мл антитела к CD38, содержащего VH и VL с SEQ ID NO: 4 и 5 соответственно;

от около 50 Ед/мл до около 5000 Ед/мл гиалуронидазы;

около 10 мМ гистидина;

от около 100 мМ до около 300 мМ сорбита;

от около 0,01% мас./об. до около 0,04% мас./об. PS-20; и

от около 1 мг/мл до около 2 мг/мл метионина.

В некоторых вариантах осуществления гиалуронидаза представляет собой гHuPH20.

В изобретении также предложен способ лечения CD38-положительной гематологической злокачественной опухоли, включающий введение нуждающемуся в этом субъекту фармацевтической композиции, содержащей

около 100 мг/мл антитела к CD38, содержащего VH и VL с SEQ ID NO: 4 и 5 соответственно;

около 500 Ед/мл гиалуронидазы;

около 10 мМ гистидина;

около 300 мМ сорбита;

около 0,04% мас./об. PS-20; и

около 2 мг/мл метионина, при pH около 5,5.

В некоторых вариантах осуществления гиалуронидаза представляет собой гHuPH20.

В изобретении также предложен способ лечения CD38-положительной гематологической злокачественной опухоли, включающий введение нуждающемуся в этом субъекту фармацевтической композиции, содержащей

около 120 мг/мл антитела к CD38, содержащего VH и VL с SEQ ID NO: 4 и 5 соответственно;

около 2000 Ед/мл гHuPH20;

около 10 мМ гистидина;

около 300 мМ сорбита;

около 0,04% мас./об. PS-20; и

около 1 мг/мл метионина; при pH около 5,6.

В некоторых вариантах осуществления гиалуронидаза представляет собой гHuPH20.

Антитела к CD38 в фармацевтических композициях изобретения могут индуцировать уничтожение CD38-экспрессирующих опухолевых клеток путем антителозависимой клеточно-опосредованной цитотоксичности (ADCC), антителозависимого клеточного фагоцитоза (ADCP), комплемент-зависимой цитотоксичности (CDC), апоптоза или модуляции ферментативной активности CD38. Антитела к CD38 в фармацевтических композициях изобретения могут также опосредовать противоопухолевую эффективность путем иммуномодулирующего действия, индуцируя пролиферацию Т-клеток CD4⁺ и CD8⁺ и/или ослабляя ингибирование воспалительных реакций, опосредованных миелоидными супрессорными клетками (MDSC) и регуляторными Т-клетками (Treg).

Термины "антителозависимая клеточная цитотоксичность", "антителозависимая клеточно-опосредованная цитотоксичность" или ADCC представляют собой механизм индукции гибели клеток, который зависит от взаимодействия покрытых антителами клеток-мишеней с эффекторными клетками, обладающими литической активностью, например естественными киллерными клетками, моноцитами, макрофагами и нейтрофилами, посредством гамма-рецепторов Fc (FcγR), экспрессирующихся на эффекторных клетках. Например, NK-клетки экспрессируют FcγRIIIa, тогда как моноциты экспрессируют FcγRI, FcγRII и FcγRIIIa. Гибель покрытых антителами клеток-мишеней, таких как CD38-экспрессирующие клетки, происходит в результате активности эффекторных клеток через секрецию мембранных порообразующих белков и протеаз. Для оценки ADCC-активности антитела, которое специфически связывается с CD38, антитело можно добавлять к CD38-экспрессирующим клеткам в комбинации с иммунными эффекторными клетками, которые могут быть активированы комплексами антиген-антитело, что приводит к цитолизу клетки-мишени. Цитоллиз по существу обнаруживают по высвобождению метки (например, радиоактивных субстратов, флуоресцентных красителей или природных внутриклеточных белков) из лизированных клеток. Иллюстративные эффекторные клетки для таких анализов включают мононуклеарные клетки периферической крови (PBMC) и NK-клетки. Типовые клетки-мишени включают Treg или MDSC, экспрессирующие CD38. В примере анализа клетки-мишени метят 20 мКи 51Cr в течение 2 часов и тщательно промывают. Концентрацию клеток-мишеней могут корректировать до 1×10⁶ клеток/мл, и добавляют антитела к CD38 в различных концентрациях. Проведение анализа начинают с добавления клеток-мишеней в соотношении эффекторные клетки: клетки-мишени 40:1. После инкубирования в течение 3 ч при 37°C проведение анализа прекращают путем центрифугирования и на сцинтилляционном счетчике измеряют высвобождение 51Cr из лизированных клеток. Процентное значение клеточной цитотоксичности можно рассчитывать как % максимального лизиса, который можно индуцировать путем добавления к клеткам-мишеням 3% хлорной кислоты.

"Антителозависимый клеточный фагоцитоз" (ADCP) относится к механизму уничтожения покрытых антителами клеток-мишеней путем интернализации фагоцитарными клетками, такими как макрофаги или дендритные клетки. ADCP можно оценить, используя Treg или MDSC, экспрессирующие CD38, в качестве клеток-мишеней, сконструированных, чтобы экспрессировать GFP или другую меченую молекулу. Соотношение эффекторные клетки: клетки-мишени может составлять, например, 4:1. Эффекторные клетки можно инкубировать с клетками-мишенями в течение 4 ч, с антителом к CD38 или без него. После инкубации клетки можно отделять с помощью акутазы. Идентификацию макрофагов можно проводить с помощью антител к CD11b и к CD14, связанных с флуоресцентной меткой, а процент фагоцитоза можно определять на основании % флуоресцентного GFP в макрофагах CD11⁺CD14⁺ с помощью стандартных способов.

"Комплемент-зависимая цитотоксичность" или CDC относится к механизму индукции гибели клеток, в рамках которого эффекторный домен Fc связанного с мишенью антитела связывает и активирует компонент комплемента C1q, который в свою очередь активирует каскад комплемента, приводящий к гибели клетки-мишени. Активация комплемента может также приводить к осаждению компонентов комплемента на поверхности клеток-мишеней, что облегчает ADCC посредством связывания на лейкоцитах рецепторов комплемента (например, CR3).

Способность моноклональных антител индуцировать ADCC можно усилить путем конструирования их олигосахаридного компонента. IgG1 или IgG3 человека претерпевают N-гликозилирование по Asn297 большинством гликанов в хорошо известных 2-антенарных формах GO, GOF, G1, G1F, G2 или G2F. Содержание фукозы в гликанах антител, продуцируемых несконструированными клетками CHO, как правило, составляет по меньшей мере около 85%. Удаление центральной фукозы из олигосахаридов типа 2-антенарного комплекса, присоединенных к областям Fc, усиливает ADCC антител посредством улучшенного связывания FcγRIIIa без изменения связывания с антигеном или активности CDC. Такие mAb можно получать различными способами, которые, по имеющимся данным, приводят к успешной экспрессии антител с относительно высокой степенью дефукозилирования, несущих Fc-олигосахариды типа 2-антенарного комплекса, например, контроль осмоляльности культуральной среды (Konno et al., *Cytotechnology* 64:249-65, 2012), применение в качестве линии клеток-хозяев вариантной линии CHO Lec13 (Shields et al., *J Biol Chem* 277:26733-26740, 2002), применение в качестве линии клеток-хозяев вариантной линии клеток CHO EB66 (Olivier et al., *MAbs*;2(4), 2010; электронное издание до печатного из-

дания; PMID:20562582), применение в качестве линии клеток-хозяев гибридной клеточной линии крысы YB2/0 (Shinkawa et al., J Biol Chem 278:3466-3473, 2003), введение малой интерферирующей РНК, специфичной к гену α -1,6-фукозилтрансферазы (FUT8) (Mori et al., Biotechnol Bioeng 88:901-908, 2004), или коэкспрессия β -1,4-N-ацетилглюкозаминилтрансферазы III и α -маннозидазы II комплекса Гольджи, или применение сильного ингибитора альфа-маннозидазы I, кифунензина (Ferrara et al., J Biol Chem 281:5032-5036, 2006, Ferrara et al., Biotechnol Bioeng 93:851-861, 2006; Xhou et al., Biotechnol Bioeng 99:652-65, 2008). ADCC, вызываемая антителами к CD38, которые применяются в способах изобретения и в некоторых вариантах осуществления из всех без исключения перечисленных ниже пронумерованных вариантов осуществления, может также усиливаться за счет некоторых замен в Fc антитела. Примерами замен являются, например, замены в аминокислотных положениях 256, 290, 298, 312, 356, 330, 333, 334, 360, 378 или 430 (нумерация остатков соответствует индексу EU), как описано в патенте США № 6,737,056.

В некоторых вариантах осуществления антитело к CD38 содержит замещение в Fc антитела.

В некоторых вариантах осуществления антитело к CD38 содержит замену в Fc антитела в аминокислотных положениях 256, 290, 298, 312, 356, 330, 333, 334, 360, 378 или 430 (нумерация остатков соответствует индексу EU).

В некоторых вариантах осуществления антитело к CD38 содержит 2-антенарную гликановую структуру с содержанием фукозы от около 0% до около 15%, например 15%, 14%, 13%, 12%, 11%, 10%, 9%, 8%, 7%, 6%, 5%, 4%, 3%, 2%, 1% или 0%.

В некоторых вариантах осуществления антитело к CD38 имеет 2-антенарную гликановую структуру с содержанием фукозы около 50%, 40%, 45%, 40%, 35%, 30%, 25%, 20%, 15%, 14%, 13%, 12%, 11%, 10%, 9%, 8%, 7%, 6%, 5%, 4%, 3%, 2%, 1% или 0%.

Замены в Fc и сниженное содержание фукозы могут усиливать активность ADCC антитела к CD38.

Термин "содержание фукозы" означает количество моносахарида фукозы в пределах сахаридной цепи в положении Asn297. Относительное количество фукозы представляет собой процентное содержание фукозосодержащих структур, относящихся ко всем гликоструктурам. Их можно охарактеризовать и количественно определить множеством способов, например: 1) при помощи времяпролетной матрично-активированной лазерной десорбции/ионизации (MALDI-TOF) пробы, обработанной N-гликозидазой F (например, комплексные, гибридные, олигоманнозные и высокоманнозные структуры), как описано в международной патентной публикации № WO2008/077546; 2) посредством ферментативного высвобождения гликанов Asn297 с последующей дериватизацией и обнаружением/количественным определением методом ВЭЖХ (СВЭЖХ) с флуоресцентным обнаружением и/или ВЭЖХ-МС (СВЭЖХ-МС); 3) анализом интактного белка нативного или восстановленного mAb с обработкой или без обработки гликанов Asn297 ферментом Endo S или другим ферментом, который расщепляет связь между первым и вторым моносахаридами GlcNAc, сохраняя фукозу присоединенной к первому GlcNAc; 4) расщеплением mAb на составляющие пептиды посредством ферментативного расщепления (например, трипсином или эндопептидазой Lys-C) и последующим разделением, обнаружением и количественным определением посредством ВЭЖХ-МС (СВЭЖХ-МС); или 5) отделением олигосахаридов mAb от белка mAb на Asn 297 посредством специфического ферментативного дегликозилирования с помощью PNGase F. Высвобожденные олигосахариды можно метить флуорофором, разделять и идентифицировать различными вспомогательными методами, которые позволяют: точно охарактеризовать структуры гликанов посредством масс-спектрометрии с матрично-активированной лазерной десорбцией/ионизацией (MALDI) путем сравнения экспериментальных масс с теоретическими массами, определить степень сialiлирования с помощью ионообменной ВЭЖХ (GlycoSep C), разделить и количественно оценить формы олигосахаридов по критерию гидрофильности с помощью ВЭЖХ с обычной фазой (GlycoSep N) и разделить и количественно оценить формы олигосахаридов с помощью высокоэффективного капиллярного электрофореза с лазер-индуцированной флуоресценцией (HPCE-LIF).

В настоящем документе выражения "низкофукозный" или "с низким содержанием фукозы" относятся к антителам с содержанием фукозы около 0-15%.

В настоящем документе выражения "нормофукозный" или "с нормальным содержанием фукозы" относятся к антителам с содержанием фукозы более около 50%, как правило, более около 60%, 70%, 80% или более 85%.

В описанных в настоящем документе способах и в некоторых вариантах осуществления из всех без исключения перечисленных ниже пронумерованных вариантов осуществления антитело к CD38 имеет изотип IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4.

В способах изобретения можно применять антитела, которые по существу идентичны антителу, содержащему VH с SEQ ID NO: 4 и VL с SEQ ID NO: 5. В настоящем документе термин "по существу идентичный" означает, что сравниваемые аминокислотные последовательности VH или VL двух антител идентичны или имеют "несущественные отличия". Несущественные отличия представляют собой замены 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 или 15 аминокислот в тяжелой цепи или легкой цепи антитела, не оказывающие отрицательного влияния на свойства антитела. Процентное значение идентичности можно

определять, например, путем попарного выравнивания с применением настроек по умолчанию в модуле AlignX программы Vector NTI v.9.0.0 (Invitrogen, г. Карлсбад, штат Калифорния). Белковые последовательности настоящего изобретения можно применять в качестве искомой последовательности при осуществлении поиска в общедоступных или патентованных базах данных, например, для идентификации родственных последовательностей. Примерами программ, применяемых для выполнения таких поисков, являются программы XBLAST или BLASTP (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) или пакет GenomeQuest™ (GenomeQuest, г. Уэстборо, штат Массачусетс) с применением настроек по умолчанию. Примеры замен, которые могут проводиться для антител к CD38, применяемых в способах изобретения, представляют собой, например, консервативные замены на аминокислоты, имеющие аналогичный заряд, гидрофобные свойства или стереохимические характеристики. Могут также осуществлять консервативные замены для улучшения свойств антитела, например стабильности или аффинности, или для улучшения эффекторных функций антитела. Можно осуществлять 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 или 15 аминокислотных замен, например, в тяжелой или легкой цепи антитела к CD38. Более того, любой нативный остаток в тяжелой или легкой цепи также можно замещать аланином, как ранее было описано в отношении аланин-сканирующего мутагенеза (MacLennan et al., *Acta Physiologica Scand Suppl* 643:55-67, 1998; Sasaki et al., *Adv Biophys* 35:1-24, 1998). Специалисты в данной области могут определять желательные аминокислотные замены, когда такие замены необходимы. Аминокислотные замены можно осуществлять, например, с помощью ПЦР-мутагенеза (патент США № 4,683,195). Библиотеки вариантов можно создавать с помощью хорошо известных способов, например, путем применения случайных (NNK) или неслучайных кодонов, например кодонов DVK, кодирующих 11 аминокислот (Ala, Cys, Asp, Glu, Gly, Lys, Asn, Arg, Ser, Tyr, Trp), и скрининга библиотек на варианты с желательными свойствами. Созданные варианты можно тестировать на их связывание с CD38, их способность индуцировать ADCC, ADCP или апоптоз или модулировать ферментативную активность CD38 *in vitro* с применением способов, описанных в настоящем документе.

В некоторых вариантах осуществления антитело к CD38 может связываться с человеческим CD38 с различными аффинностями (KD). В одном варианте осуществления в соответствии с изобретением и в некоторых вариантах осуществления из всех без исключения перечисленных ниже пронумерованных вариантов осуществления антитело к CD38 связывается с CD38 с высокой аффинностью, например со значением KD, которое равно или меньше около 10⁻⁷ M, таким как, без ограничений, 1⁻⁹, 9 (или в любом входящем в него диапазоне или значении, таком как 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 или 9) × 10⁻⁸ M, 10⁻⁹ M, 10⁻¹⁰ M, 10⁻¹¹ M, 10⁻¹² M, 10⁻¹³ M, 10⁻¹⁴ M, 10⁻¹⁵ M или любой входящий в него диапазон или значение, как определяется методом поверхностного плазмонного резонанса или методом Kineха, как практикуется специалистами в данной области. В одном примере значение аффинности равно 1×10⁻⁸ M или менее. В другом примере значение аффинности равно 1×10⁻⁹ M или менее.

В некоторых вариантах осуществления антитело к CD38 представляет собой биспецифическое антитело. Области VL и/или VH существующих антител к CD38 или области VL и VH, идентифицированные *de novo*, как описано в данном документе, могут быть сконструированы с получением биспецифических полноразмерных антител. Такие биспецифические антитела можно получить путем модуляции взаимодействий СНЗ между тяжелыми цепями моноспецифических антител с образованием биспецифических антител с помощью технологий, таких как технологии, описанные в патенте США № 7,695,936; международной патентной публикации № WO 04/111233; патентной публикации США № US2010/0015133; патентной публикации США № US2007/0287170; международной патентной публикации № WO 2008/119353; патентной публикации США № US2009/0182127; патентной публикации США № US2010/0286374; патентной публикации США № US2011/0123532; международной патентной публикации № WO 2011/131746; международной патентной публикации № WO 2011/143545; или патентной публикации США № US 2012/0149876. Дополнительными биспецифическими структурами, в которые могут встраиваться области VL и/или VH антител изобретения, являются, например, иммуноглобулины с двойными вариабельными доменами (международная патентная публикация № WO 2009/134776) или структуры, включающие различные димеризационные домены для соединения двух плеч антител с разной специфичностью, такие как "лейциновая застежка" или коллагеновые димеризационные домены (международная патентная публикация № WO 2012/022811, патент США № 5,932,448; патент США № 6,833,441).

Например, биспецифические антитела можно создавать *in vitro* в бесклеточной среде, вводя асимметричные мутации в областях СНЗ двух моноспецифических гомодимерных антител и образуя биспецифическое гетеродимерное антитело из двух родительских моноспецифических гомодимерных антител в восстановительных условиях, что способствует изомеризации дисульфидной связи, в соответствии со способами, описанными в международной патентной публикации № WO 2011/131746. В способах первое моноспецифическое двухвалентное антитело (например, антитело к CD38) и второе моноспецифическое двухвалентное антитело конструируют так, чтобы они имели определенные замены в домене СНЗ, обеспечивающие стабильность гетеродимера; антитела инкубируют вместе в восстановительных условиях, достаточных для обеспечения того, чтобы цистеины в шарнирной области подвергались изомеризации

дисульфидной связи; таким образом в результате обмена плечами Fab образуется биспецифическое анти-тело. Условия инкубации можно оптимально возвращать к невозстанавливающим. Примерами восстанавливающих агентов, которые можно использовать, являются 2-меркаптоэтиламин (2-MEA), дитиотреитол (ДТТ), дитиоэритрит (ДТЕ), глутатион, трис(2-карбоксиил)фосфин (ТСЕР), L-цистеин и бета-меркаптоэтанол, предпочтительно восстанавливающий агент выбирают из группы, состоящей из: 2-меркаптоэтиламина, дитиотреитола и трис(2-карбоксиил)фосфина. Например, можно использовать инкубацию в течение по меньшей мере 90 мин при температуре по меньшей мере 20°C в присутствии по меньшей мере 25 мМ 2-MEA или в присутствии по меньшей мере 0,5 мМ дитиотреитола при pH 5-8, например при pH 7,0 или pH 7,4.

Примеры мутаций CH3, которые можно использовать в первой тяжелой цепи и во второй тяжелой цепи биспецифического антитела, являются K409R и/или F405L.

Способы в соответствии с изобретением можно применять для лечения пациента-животного в рамках любой классификации. К примерам таких животных относятся млекопитающие, такие как люди, грызуны, собаки, кошки и сельскохозяйственные животные.

Комбинированные терапии.

Фармацевтические композиции изобретения можно вводить в комбинации со вторым терапевтическим агентом или его комбинациями.

Второй терапевтический агент может представлять собой мелфалан, мехлорэтамин, тиопу, хлорамбуцил, кармусти (BSNU), ломустин (CCNU), циклофосфамид, бусульфамид, дибромманнит, стрептозоцин, дакарбазин (DTIC), прокарбазин, митомицин С, цисплатин и другие производные платины, такие как карбоплатин, талидомид или аналог талидомида, леналидомид или CC4047, ингибитор протеасом, такой как бортезомиб, или алкалоид барвинка, такой как винкристин, или антрациклин, такой как доксорубин.

В некоторых вариантах осуществления второй терапевтический агент представляет собой ингибитор протеасом.

В некоторых вариантах осуществления ингибитор протеасом представляет собой бортезомиб, карфилзомиб или иксазомиб.

В некоторых вариантах осуществления второе терапевтическое средство представляет собой алкилирующее средство.

В некоторых вариантах осуществления алкилирующий агент представляет собой бусульфамид, циклофосфамид, бендамустин, хлорамбуцил, карбоплатин, цисплатин, темозоломид, мелфалан, бусульфамид, бендамустин, кармусти, ломустин, дакарбазин, оксалиплатин, ифосфамид, мехлорэтамин, тиопу, трабектедин или стрептозоцин.

В некоторых вариантах осуществления второй терапевтический агент представляет собой производное глутаминовой кислоты.

В некоторых вариантах осуществления производное глутаминовой кислоты представляет собой Revlimid® (леналидомид), талидомид или Pomalyst® (помалидомид).

В некоторых вариантах осуществления субъекту дополнительно вводят кортикостероид.

В некоторых вариантах осуществления кортикостероид представляет собой дексаметазон или преднизон.

Второй терапевтический агент или его комбинации, как правило, вводят в дозах, рекомендованных для указанного агента.

Фармацевтическую композицию изобретения можно вводить одновременно или последовательно со вторым терапевтическим агентом или его комбинациями.

Хотя изобретение описано в общих чертах, варианты осуществления изобретения будут дополнительно описаны в следующих примерах, которые не следует толковать как ограничивающие объем формулы изобретения.

Пример 1. Подкожная доставка 2% человеческого иммуноглобулина G (IgG) вместе с рекомбинантной человеческой гиалуронидазой PH20 (gHuPH20) в модели на карликовых свиньях.

Изложение сущности

Карликовая свинья представляет собой доклиническую модель, приемлемую для оценки биотерапевтических средств в условиях подкожного (п/к) введения, в связи с ее анатомической схожестью с человеческой кожей и возможностью клинического применения полученных результатов (Mahj et al., Exp Toxicol Path 57: 341-5, 2006). Цель настоящего исследования заключалась в оценке и анализе условий введения 100 мл раствора человеческого IgG 20 мг/мл, содержащего 200, 500 или 800 Ед/мл gHuPH20, при двух различных скоростях потока (2 и 4 мл/мин). Оцениваемые параметры включали количественные измерения давления инфузии, а также количественные оценки локального места инфузии, например размер и плотность припухлости.

Юкатанским карликовым свиньям подкожно инфузирвали 100 мл раствора, содержащего 20 мг/мл иммуноглобулина G (IgG) и 200, 500 или 800 Ед/мл gHuPH20 со скоростью потока 2 или 4 мл/мин. Во время инфузий измеряли давление в системе в реальном времени. После завершения инфузий в локальных участках инфузии измеряли объем и площадь видимой припухлости (при наличии) и выполняли ка-

чественную оценку места инфузии наличия и выраженности эритемы, размера и плотности припухлости/волдыря и макроскопических изменений. Давление инфузии было в целом низким и варьировалось в диапазоне от ~5,3 до 8,0 кПа (40-60 мм рт.ст. (~1 фунт/кв.дюйм)) при обеих скоростях потока.

Отсутствовали статистические различия в давлении между различными концентрациями гHuPH20 и двумя различными скоростями потока, при этом общее давление, как и ожидалось, было немного ниже при скорости потока 2 мл/мин.

Неожиданным результатом было число инфузий (10 из 12), при которых присутствовала видимая и поддающаяся измерению припухлость в месте инфузии при более низкой скорости потока 2 мл/мин. Данное явление наблюдалось при всех трех концентрациях гHuPH20. Напротив, только 3 из 12 инфузий при более высокой скорости потока 4 мл/мин привели к возникновению видимой и поддающейся измерению локальной припухлости. Данное явление также наблюдалось при каждой концентрации гHuPH20.

Во всех случаях, когда была видна локальная припухлость, она исчезала в течение часа. Кроме того, локальная припухлость на участках инфузии была по существу мягкой на ощупь и неплотной, как видно по показателю припухлости/уплотнения (средний балл < 2). Частота возникновения эритемы была большей в случае инфузий со скоростью потока 2 мл/мин; однако общая выраженность эритемы была слабой, и она полностью исчезала к следующему дню. В исследовании не было отмечено других макроскопических изменений на участках инфузии.

В настоящем исследовании оценивали три различные концентрации гHuPH20 (200, 500 или 800 Ед/мл), и в результате не было обнаружено статистических различий между концентрациями на основании измерения оцениваемых параметров исследования. В целом при более высокой скорости потока 4 мл/мин наблюдалась более низкая частота эритемы, видимой припухлости и уплотнения в месте инфузии, чем при скорости потока 2 мл/мин.

Испытуемые препараты и способы исследования.

Испытуемые препараты.

Материалы в буферном растворе для состава.

Ацетат натрия 25 мМ (Spectrum; № изделия S0104; № серии 1DI0271).

Хлорид натрия 60 мМ (Spectrum; № изделия S0155; № серии 1CE0421).

D-маннит 140 мМ (Spectrum; № изделия MA165; № серии 1EB0316).

Полисорбат-200,04% (JT Baker; № изделия 4116-04; № серии 0000017659).

pH 5,5 (ледяная уксусная кислота для корректировки pH; Fisher Scientific; № изделия A491-212; № серии 080972).

Материалы в лекарственном веществе.

Человеческий гамма-глобулин (BioMed Supply; № изделия HGG-1005; № серии BMS31309013).

гHuPH20 [(изготовлен Cook Pharmica для Halozyme; № серии Halozyme 462-021B (заново расфасован, № серии Cook 104-001-HSTFIL-9054))].

Состав

20 мг/мл IgG смешивали с 200, 500 или 800 Ед/мл гHuPH20 за 4 дня до начала исследования. Растворы разливали порциями в отдельные стеклянные бутылки, герметично закупоривали пробкой и обжимали крышкой. Все растворы до начала исследования хранили при температуре 2-8°C, но перед выполнением инфузий их оставляли для нагревания до комнатной температуры. Кроме того, из каждого состава отбирали пробу для исследования ферментативной активности гHuPH20. Результаты анализа ферментативной активности подтвердили, что концентрация всех растворов для дозирования находилась в пределах 10% от целевой концентрации (данные не показаны).

Описание животных

Вид: свинья (*Sus scrofa domestica*).

Штамм: Юкатанская карликовая.

Пол: женский пол.

Возраст: > 3 месяцев.

Масса: ~ 12 кг.

Количество: 12.

По материалам: S&S Farms (г. Рамона, штат Калифорния).

Уход за животными

Животных содержали в стальных клетках с автоматической системой подачи воды в неограниченном количестве. Животных кормили дважды в день (до и после обеда), за исключением дня исследования (только после обеда). Массу тела животных измеряли и фиксировали, начиная со дня поступления и до одного дня после завершения исследования для оценки состояния здоровья животных. В течение этого периода все животные сохраняли массу тела (данные не показаны). В помещении поддерживали температуру ~17-27°C и относительную влажность 40-70%, а также цикл 12-часовой цикл дня и ночи. Животным давали возможность привыкнуть к помещению в течение 7 дней до начала исследования.

Испытуемые материалы

Шприцевые насосы высокого давления (KD Scientific; г. Холлистон, штат Массачусетс).

Система с инфузионной иглой-бабочкой 23 ga × 1,9 см (23 да × 3/4 дюйма) и трубкой длиной 30 сантиметров (12 дюймов) (Terumo Medical Corporation; г. Сомерсет, штат Нью-Джерси).

Шприц 140 см³ с разъемом Люэра (Covidien; г. Мансфилд, штат Массачусетс).

Удлинительная система длиной 18 см (7 дюймов) (B/Braun; г. Бетлехем, штат Пенсильвания).

PowerLab 4/30 (AD Instruments; г. Колорадо-Спрингс, штат Колорадо).

Одноразовый датчик давления Deltran-1 (Utah Medical Products; г. Мидвейл, штат Юта).

Цифровой штангенциркуль (Preisser Messtechnik; г. Гаммертинген, Германия).

Изофлуран (Minrad International Company, г. Орчард Парк, штат Нью-Йорк).

Испаритель изофлурана (VetEquip; г. Плзэнтон, штат Калифорния).

План эксперимента

План эксперимента кратко изложен в описании когорт (табл. 1) и описании инфузий для каждого животного (табл. 2). Вкратце, 100 мл раствора, содержащего 20 мг/мл IgG, смешанного с 200, 500 или 800 Ед/мл гHuPH20, вводили в область живота анестезированных юкатанских карликовых свиней со скоростью потока 2 или 4 мл/мин. Оцениваемые параметры исследования включали измерения давления с помощью встроенного в систему датчика давления, объема и площади (если возможно) припухлости (волдыря) после инфузии и качественную оценку места инфузии, включая фотографии.

Таблица 1

Когорта	Испытуемый препарат	Скорость потока (мл/мин)
1	IgG+200 Ед/мл гHuPH20	2 мл/мин
2	IgG+500 Ед/мл гHuPH20	
3	IgG+800 Ед/мл гHuPH20	
4	IgG+200 Ед/мл гHuPH20	4 мл/мин
5	IgG+500 Ед/мл гHuPH20	
6	IgG+800 Ед/мл гHuPH20	

Таблица 2

Идентификатор животного	Скорость потока (мл/мин)	Инфузия в левый бок	Инфузия в правый бок
1	2	IgG+200 Ед/мл	IgG+500 Ед/мл
		гHuPH20	гHuPH20
2		IgG+200 Ед/мл	IgG+800 Ед/мл
		гHuPH20	гHuPH20
3		IgG+500 Ед/мл	IgG+200 Ед/мл
		гHuPH20	гHuPH20
4		IgG+500 Ед/мл	IgG+800 Ед/мл
		гHuPH20	гHuPH20
5		IgG+800 Ед/мл	IgG+200 Ед/мл
		гHuPH20	гHuPH20
6		IgG+800 Ед/мл	IgG+500 Ед/мл
		гHuPH20	гHuPH20
7		IgG+200 Ед/мл	IgG+500 Ед/мл
		гHuPH20	гHuPH20
8		IgG+200 Ед/мл	IgG+800 Ед/мл
		гHuPH20	гHuPH20
9		IgG+500 Ед/мл	IgG+200 Ед/мл
		гHuPH20	гHuPH20
10		IgG+500 Ед/мл	IgG+800 Ед/мл
		гHuPH20	гHuPH20
11		IgG+800 Ед/мл	IgG+200 Ед/мл
		гHuPH20	гHuPH20
12		IgG+800 Ед/мл	IgG+500 Ед/мл
		гHuPH20	гHuPH20

n=4 инфузии на одну когарту с одной скоростью потока.

Каждое животное одновременно получало 2 разных инфузии (по одной на каждом противоположном участке).

Концентрации гHuPH20: 200 Ед/мл=всего 20000 Ед; 500 Ед/мл=всего 50000 Ед;

800 Ед/мл=всего 80000 Ед.

Объем инфузии 100 мл.

Критерии оценки.

Давление в системе (инфузии).

Измерение объема и площади припухлости/волдыря.

Качественная оценка эритемы и уплотнения, включая фотографии.

Процедура исследования

Перед началом исследования у животных оценивали общее состояние здоровья и измеряли массу тела. В день исследования животных анестезировали газом изофлураном, помещали в положение лежа на спине на подогревом хирургическом столе и поддерживали подачу газа изофлурана в течение всего периода процедуры. Область живота очищали изопропанолом и вытирали досуха чистой марлей. Участки инфузии были размещены в левой и правой областях живота, ~ 3-4 см от средней линии, начиная от головного конца паховой складки, а после ~ 6 см к головному концу. Участки инфузии помечали несмываемым фломастером и впоследствии фотографировали. Перед инфузиями испытуемые препараты нагревали до комнатной температуры. Испытуемые препараты помещали в шприц 140 см³ (> 100 мл для учета объема, необходимого для заполнения системы). К шприцу присоединяли датчик давления. После этого к датчику прикрепляли удлинительную систему с подсоединенной инфузионной иглой-бабочкой 23 да × 1,9 см (23 да × 3/4 дюйма). Впоследствии инфузионную систему заполняли до кончика иглы. Шприц помещали в шприцевой насос. Этот процесс выполняли дважды, при этом каждый шприц содержал различный испытуемый препарат. Иглы помещали подкожно в отмеченные левый и правый участки инфузии на животе животного. Встроенный в систему датчик давления обнуляли. Начинали фиксацию давления в системе, а впоследствии одновременно запускали два шприцевых насоса для введения 100 мл испытуемых препаратов со скоростью потока 2 или 4 мл/мин. После завершения инфузий сбор данных о давлении в системе прекращали, иглы удаляли, а отверстие, оставшееся после введения иглы, герметизировали жидким адгезивом VetBond для предотвращения утечки. Измеряли площадь и объем припухлости/волдыря в локальном месте инфузии с использованием цифрового штангенциркуля. Кроме того, выполняли качественную оценку локальных участков инфузии в отношении внешнего вида (эритема), размера припухлости/волдыря и плотности (уплотнения), используя 5-балльную систему оценки (табл. 3, табл. 4 и 5 соответственно). Наконец, делали фотографии участков инфузии.

Таблица 3

Значение	Описание
0	Отсутствие эритемы
1	Очень незначительная эритема (едва ощутимая)
2	Хорошо сформированная эритема
3	Умеренная или выраженная эритема
4	Выраженная эритема (ярко-красного цвета) или образование небольшого струпа

Таблица 4

Значение	Описание
0	Отсутствие припухлости
1	Очень незначительная припухлость
2	Легкая припухлость
3	Умеренная припухлость
4	Выраженная припухлость

Таблица 5

Значение	Описание
0	Отсутствуют ощутимые различия в плотности после инъекции
1	Очень незначительное уплотнение (едва ощутимое)
2	Легкое уплотнение
3	Умеренное уплотнение
4	Выраженное уплотнение

Расчеты и статистические способы

Оценка давления инфузии

Фиксировали значения давления инфузии, измеренного посредством встроенного в систему датчика с использованием LabChart 7 и рассчитывали среднее давление в течение всего периода инфузии.

Оценка объема и площади локальной припухлости

Объем и площадь припухлости после инфузии измеряли с помощью цифрового штангенциркуля и

фиксируют вручную. Измеренные значения фиксируют в виде длины, ширины и высоты. Для расчета объема использовали формулу для эллипсоида. $Объем = \frac{4}{3}\pi ABC$, где A=радиус длины, B=радиус ширины, C=радиус высоты. Для расчета площади использовали простую формулу длина × ширина.

Оценка локальных участков инфузии

После завершения инфузии три различных специалиста проводили независимую оценку локальных участков инфузии. Каждый специалист оценивал кожу в каждом месте инфузии на наличие эритемы, размер локальной припухлости и плотность. Для оценки трех исследуемых областей использовали шкалу от 0 до 4 баллов, причем 0 баллов означает отсутствие эффекта, а 4 - выраженный эффект. Кроме того, баллы оценки эритемы и припухлости использовали для расчета показателя первичного раздражения (PII) по формуле $PII = \text{среднее} [(\sum \text{баллов эритемы} + \sum \text{баллов припухлости}) \div 2]$. Более того, баллы припухлости и уплотнения использовали для расчета показателя припухлости/уплотнения (SII) по формуле $SII = \text{среднее} [(\sum \text{баллов припухлости} + \sum \text{баллов плотности}) \div 2]$. Если показатель SII составлял ≤ 2 , это расценивали как отсутствие уплотнения.

Статистические анализы

Статистические сравнения между когортами проводили с использованием одностороннего дисперсионного анализа (ANOVA) с критерием множественного сравнения Тьюки для непрерывных переменных и непараметрического критерия Краскела - Уоллиса с критерием множественного сравнения Данна для дискретных переменных. Статистическую значимость определяли как $p < 0,05$.

Результаты

Оценка давления инфузии

100 мл раствора 20 мг/мл IgG, смешанного с 200, 500 или 800 Ед/мл gHuPH20, вводили в область живота юкатанских карликовых свиней со скоростью потока 2 или 4 мл/мин. При инфузии со скоростью потока 2 мл/мин среднее давление инфузии составляло $40,5 \pm 0,1$, $40,0 \pm 0,1$ и $37,1 \pm 0,1$ мм рт.ст. $\pm$ стандартная ошибка среднего (SEM) в случае IgG при смешивании с 200, 500 и 800 Ед/мл gHuPH20 соответственно. При инфузиях со скоростью потока 4 мл/мин среднее давление составляло $49,9 \pm 0,1$, $55,5 \pm 0,1$ и $61,9 \pm 0,2$ мм рт.ст. $\pm$ SEM в случае IgG при смешивании с 200, 500 и 800 Ед/мл gHuPH20 соответственно. Давление инфузии статистически не различалось при различных концентрациях gHuPH20 для каждой скорости потока и статистически не различалось при двух скоростях потока.

Оценка объема и площади локальной припухлости

После завершения каждой инфузии обрисовывали (при наличии) припухлость локального места инфузии и измеряли ее, с помощью цифрового штангенциркуля. При инфузиях со скоростью потока 2 мл/мин средний объем припухлости составлял $36,6 \pm 14,4$, $19,5 \pm 6,5$ и $31,4 \pm 6,0$ см³ $\pm$ SEM в случае IgG при смешивании с 200, 500 и 800 Ед/мл gHuPH20 соответственно, при этом при 10 из 12 инфузий припухлости были видимыми и поддавались измерению. Напротив, объем припухлости обнаруживали только при 3 из 12 инфузий со скоростью потока 4 мл/мин (по одной припухлости при каждой концентрации gHuPH20). Объемы локальной припухлости статистически не различались при различных концентрациях gHuPH20 для каждой скорости потока и статистически не различались при двух скоростях потока.

В дополнение к расчету объема измеряли локальную площадь видимой после инфузии припухлости. При инфузии со скоростью потока 2 мл/мин средняя площадь припухлости составляла $78,2 \pm 26,4$, $59,7 \pm 20,0$ и $94,9 \pm 9,7$ см² $\pm$ SEM в случае IgG при смешивании с 200, 500 и 800 Ед/мл gHuPH20 соответственно. При инфузиях со скоростью потока 4 мл/мин поддающиеся измерению площади припухлости возникали только при 3 из 12 инфузий (по одной припухлости при каждой концентрации gHuPH20). Значения площади локальной припухлости статистически не различались при различных концентрациях gHuPH20 для каждой скорости потока и статистически не различались при двух скоростях потока.

Оценка локальных участков инфузии

После завершения инфузий три различных специалиста количественно оценивали локальные участки инфузии в отношении наличия и выраженности эритемы, размера видимой припухлости, физической плотности кожи, показателя первичного раздражения (PII), который включал баллы эритемы и припухлости, и показателя припухлости/уплотнения (SII), который включал баллы припухлости и плотности, для определения наличия уплотнения.

Оценивали наличие и выраженность эритемы

При инфузиях со скоростью потока 2 мл/мин средний балл эритемы составлял ($\pm$ SEM) $0,8 \pm 0,2$, $0,4 \pm 0,1$ и $1,0 \pm 0,3$ в случае IgG при смешивании с 200, 500 и 800 Ед/мл gHuPH20 соответственно. При инфузиях со скоростью потока 4 мл/мин средний балл эритемы составлял ($\pm$ SEM) $0,3 \pm 0,1$, $0,3 \pm 0,1$ и $0,2 \pm 0,1$ в случае IgG при смешивании с 200, 500 и 800 Ед/мл gHuPH20 соответственно. Баллы локальной эритемы статистически не различались при различных концентрациях gHuPH20 для каждой скорости потока и статистически не различались при двух скоростях потока. Оценивали размер видимой локальной припухлости, и при инфузии со скоростью потока 2 мл/мин средний балл припухлости составлял ($\pm$ SEM) $1,9 \pm 0,4$, $1,4 \pm 0,3$ и $2,0 \pm 0,2$ в случае IgG при смешивании с 200, 500 и 800 Ед/мл gHuPH20 соответственно. При инфузиях со скоростью потока 4 мл/мин видимая припухлость наблюдалась реже, а средний балл эритемы составлял ($\pm$ SEM) $0,6 \pm 0,3$, $0,9 \pm 0,4$ и $0,9 \pm 0,4$ в случае IgG при смешивании с 200, 500 и

800 Ед/мл гHuPH20 соответственно. Количества баллов локальной припухлости статистически не различались при различных концентрациях гHuPH20 для каждой скорости потока и статистически не различались при двух скоростях потока, за исключением IgG+800 Ед/мл гHuPH20 при скорости потока 2 мл/мин по сравнению с IgG+200 Ед/мл гHuPH20 при скорости потока 4 мл/мин ($p < 0,05$). Оценивали физическую плотность кожи в локальном месте инфузии, и при инфузиях со скоростью потока 2 мл/мин средний балл плотности составлял ($\pm$ SEM) $1,5 \pm 0,3$, $1,0 \pm 0,2$ и $1,4 \pm 0,2$ в случае IgG при смешивании с 200, 500 и 800 Ед/мл гHuPH20 соответственно. При инфузиях со скоростью потока 4 мл/мин наблюдалась меньшая плотность в локальном месте инфузии, а средний балл плотности составлял ($\pm$ SEM) $0,5 \pm 0,3$, $0,7 \pm 0,2$ и $0,7 \pm 0,3$ в случае IgG при смешивании с 200, 500 и 800 Ед/мл гHuPH20 соответственно. Количества баллов плотности в локальном месте инфузии статистически не различались при различных концентрациях гHuPH20 для каждой скорости потока и статистически не различались при двух скоростях потока. Показатель первичного раздражения рассчитывали на основании баллов эритемы и припухлости. При инфузиях 2 мл/мин средний показатель ПИ ($\pm$ SEM) составлял $1,4 \pm 0,3$, $0,9 \pm 0,2$ и $1,5 \pm 0,2$ в случае IgG при смешивании с 200, 500 и 800 Ед/мл гHuPH20 соответственно. При инфузиях со скоростью потока 4 мл/мин получено меньшее количество баллов ПИ, а средний балл составлял ($\pm$ SEM) $0,4 \pm 0,2$, $0,6 \pm 0,3$ и $0,5 \pm 0,3$ в случае IgG при смешивании с 200, 500 и 800 Ед/мл гHuPH20 соответственно. Количества баллов ПИ статистически не различались при различных концентрациях гHuPH20 для каждой скорости потока и статистически не различались при двух скоростях потока, за исключением IgG+800 Ед/мл гHuPH20 при скорости потока 2 мл/мин по сравнению с IgG+200 Ед/мл гHuPH20 при скорости потока 4 мл/мин ($p < 0,05$). Показатель припухлости/уплотнения рассчитывали на основании баллов припухлости и плотности. При инфузии со скоростью потока 2 мл/мин средний показатель СИ составляло $1,7 \pm 0,3$, $1,2 \pm 0,2$ и $1,7 \pm 0,2$ мм рт. ст. ($\pm$ SEM) в случае IgG при смешивании с 200, 500 и 800 Ед/мл гHuPH20 соответственно. При инфузиях со скоростью потока 4 мл/мин получено меньшее количество баллов СИ, а средний балл составлял $0,6 \pm 0,3$, $0,8 \pm 0,3$ и $0,8 \pm 0,3$ ($\pm$ SEM) в случае IgG при смешивании с 200, 500 и 800 Ед/мл гHuPH20 соответственно. Количества баллов СИ статистически не различались при различных концентрациях гHuPH20 для каждой скорости потока и статистически не различались при двух скоростях потока. Если среднее значение СИ составляло ≤ 2 , то это расценивали как отсутствие уплотнения. Наконец, перед и после завершения каждой инфузии делали фотографии.

Пример 2. Открытое многоцентровое исследование с увеличением дозы фазы 1b по оценке безопасности и фармакокинетики даратумумаба с добавлением рекомбинантной человеческой гиалуронидазы (гHuPH20) при подкожном введении для лечения субъектов с рецидивирующей или рефрактерной множественной миеломой.

Цель исследования заключается в оценке безопасности, фармакокинетики и противоопухолевой активности даратумумаба при подкожном (п/к) или внутривенном (в/в) введении участникам с рецидивирующей или рефрактерной множественной миеломой. Это открытое многоцентровое состоящее из 2 частей исследование фазы 1b с увеличением дозы/числа участников по оценке безопасности, фармакокинетики и противоопухолевой активности даратумумаба при п/к или в/в введении участникам с рецидивирующей или рефрактерной множественной миеломой. В исследование будут набирать до около 48 участников в части 1 и 80 участников в части 2. Фаза увеличения дозы (часть 1) предназначена для определения рекомендованной дозы для фазы 2 (RP2D) на основании данных о безопасности и фармакокинетики (ФК) даратумумаба. Каждая часть исследования будет иметь 3 фазы: фаза скрининга, фаза открытого лечения и фаза после лечения (с момента приема последней дозы исследуемого лекарственного средства до 8-й недели после завершения лечения). В части 1 участники будут распределены в последовательные когорты, приблизительно по 8 участников в каждой. Участникам будут вводить DARA PH20 (даратумумаб с добавлением рекомбинантной человеческой гиалуронидазы [гHuPH20]) путем п/к инфузии один раз в неделю в циклах 1 (каждый цикл 28 дней) и 2, каждые 2 недели в циклах 3-6 и каждые 4 недели в последующих циклах каждой когорты. После того как последний участник в каждой когорте завершит день 1 цикла 3, группа по оценке безопасности (SET) будет оценивать данные о фармакокинетики и безопасности в соответствии с определенными протоколом критериями и примет решение о том, стоит ли увеличивать дозу в новой когорте. SET будет оценивать все данные о безопасности и ФК из части 1 для определения RP2D перед началом части 2. В части 2 участники будут рандомизированы в соотношении 1:1 для получения рекомендованной для фазы 2 дозы DARA PH20 или в/в введения 1200 мг DARA. Будут выполнять оценку безопасности, фармакокинетики и противоопухолевой активности п/к и в/в введения даратумумаба. Безопасность участников будут отслеживать на протяжении всего исследования.

Первичные критерии эффективности

Остаточные сывороточные концентрации (Strough) даратумумаба (временной интервал: до дня 1 цикла 3 (каждый цикл 28 дней) части 2). Strough: концентрация перед введением лекарственного средства.

Части 1 и 2. Число участников с нежелательными явлениями (НЯ) и серьезными НЯ (временной интервал: от скрининга до последующего наблюдения 30 дней после введения последней дозы).

Нежелательное явление (НЯ) представляет собой любое неблагоприятное медицинское событие у

участника, который получал исследуемое лекарственное средство, вне зависимости от возможности наличия причинной взаимосвязи. Серьезное нежелательное явление (СНЯ) представляет собой НЯ, приводящее к любому из следующих исходов или расцененное как значимое по любой другой причине: смерть; первичная или продленная госпитализация в стационар; опасное для жизни состояние (риск немедленной смерти); стойкая или выраженная нетрудоспособность/недееспособность; врожденная аномалия.

Вторичные критерии эффективности

Части 1 и 2. Сывороточная концентрация (в плазме) антител к даратумумабу и рекомбинантной человеческой гиалуронидазе.

(гHuPH20) (временной интервал: приблизительно 2 года).

Сывороточные концентрации антител к даратумумабу и гHuPH20 для оценки потенциальной иммуногенности.

Части 1 и 2. Процент участников с полным ответом (CR) (временной интервал: приблизительно 2 года). CR определяется как доля участников, достигших CR (включая sCR) в соответствии с критериями Международной рабочей группы по изучению миеломы (IMWG).

Части 1 и 2. Процент участников с показателем общего ответа (ORR) (временной интервал: приблизительно 2 года). Показатель общего ответа определяется как процентная доля участников, которые достигли полного ответа или частичного ответа в соответствии с критериями Международной рабочей группы по изучению миеломы во время или после завершения лечения в исследовании.

Части 1 и 2. Продолжительность ответа (DR) (временной интервал: приблизительно 2 года). DR представляет собой время со дня первичного документирования ответа (CR или PR) до дня первого документированного случая прогрессирования заболевания (PD), как определено критериями IMWG.

Части 1 и 2. Время до ответа (временной интервал: приблизительно 2 года). Время до ответа определяется как время со дня введения первой дозы исследуемого лечения до дня первого документирования наблюдаемого ответа (CR или PR).

В табл. 6 показан план исследования. В табл. 7 показаны выполненные вмешательства.

Таблица 6

Номер или название группы	Тип	Описание
Часть 1. Когорта 1	Получено экспериментальным путем	Участники будут получать DARAPN20, 1200 мг (даратумумаб 1200 миллиграмм (мг) с рекомбинантной человеческой гиалуронидазой [гHuPH20] 30 000 Ед) путем подкожной (п/к) инфузии один раз в неделю в циклах 1 (каждый цикл длится 28 дней) и 2, каждые 2 недели в циклах 3-6, а впоследствии каждые 4 недели в последующих циклах до прогрессирования заболевания.
Часть 1. Когорта 2	Получено экспериментальным путем	Участники будут получать DARAPN20, 1800 мг (даратумумаб 1800 миллиграмм (мг) с рекомбинантной человеческой гиалуронидазой [гHuPH20] 45 000 Ед) путем п/к инфузии один раз в неделю в циклах 1 и 2, каждые 2 недели в циклах 3-6, а впоследствии каждые 4 недели в

		последующих циклах до прогрессирования заболевания.
Часть 1. Когорта 3	Получено экспериментальным путем	Участники будут получать DARAPH20 в дозе, которая будет определена группой оценки исследования (SET), один раз в неделю путем п/к инфузии в циклах 1 и 2, каждые 2 недели в циклах 3-6, а впоследствии каждые 4 недели в последующих циклах до прогрессирования заболевания. Кроме того, для повторения уровня дозы даратумумаба можно набирать до трех дополнительных необязательных когорт (когорты 3b, 3c и 3d)
Часть 2. Когорта 4	Получено экспериментальным путем	П/к инфузию DARA-PH20 в RP2D (доза, рекомендованная для фазы 2), которую определяют в части 1, будут вводить участникам путем п/к инфузии один раз в неделю в циклах 1 и 2, каждые 2 недели в циклах 3-6, а впоследствии каждые 4 недели в последующих циклах до прогрессирования заболевания.
Часть 2. Когорта 5	Получено экспериментальным путем	Даратумумаб 1200 мг будут вводить участникам путем внутривенной (в/в) инфузии один раз в неделю в циклах 1 и 2, каждые 2 недели в циклах 3-6, а впоследствии каждые 4 недели в последующих циклах до прогрессирования заболевания.

Таблица 7

Название вмешательства	Тип	Вовлеченные группы	Описание
Даратумумаб Подкожная (п/к) инфузия	Лекарственное средство	Часть 1. Когорта 1 Часть 2. Когорта 1 Часть 1. Когорта 2 Часть 1. Когорта 3 Часть 2. Когорта 4	Участники будут получать п/к инфузию даратумумаба один раз в неделю в циклах 1 (каждый цикл длится 28 дней) и 2, каждые 2 недели в циклах 3-6 и каждые 4 недели в последующих циклах.
П/к инфузия рекомбинантной гиалуронидазы [rHuPH20]		Часть 1. Когорта 1 Часть 1. Когорта 2 Часть 1. Когорта 3 Часть 2. Когорта 4	Участники будут получать п/к инфузию рекомбинантной гиалуронидазы [rHuPH20] вместе с даратумумабом путем п/к инфузии один раз в неделю в циклах 1 (каждый цикл длится 28 дней) и 2, каждые 2 недели в циклах 3-6 и каждые 4 недели в
Даратумумаб Внутривенная (в/в) инфузия		Часть 2. Когорта 5	Участники будут получать в/в инфузию даратумумаба 1200 мг один раз в неделю в циклах 1 (каждый цикл 28 дней) и 2, каждые 2 недели в циклах 3-6 и каждые 4 недели в последующих циклах.
			каждые 2 недели в циклах 3-6 и каждые 4 недели в последующих циклах.

Критерии отбора для участия

Участники, у которых подтвердили наличие симптоматической (присутствуют симптомы) множественной миеломы (ММ) в соответствии с диагностическими критериями Международной рабочей группы по изучению миеломы (IMWG).

Критерии:

поддающееся измерению заболевание, определяемое как любое из следующих состояний:

(а) миелома иммуноглобулина (Ig) G (сывороточная концентрация моноклонального парапротеина [М-белок] $\geq 1,0$ грамм/децилитр [г/дл] или концентрация М-белка в моче, которая равна или больше ($\geq$) 200 миллиграмм [мг]/24 часа [ч]; или

(b) множественная миелома IgA, IgD IgE (сывороточная концентрация М-белка $\geq 0,5$ г/дл или концентрация М-белка в моче ≥ 200 мг/24 ч); или

(с) множественная миелома легких цепей (сывороточная концентрация свободных легких цепей иммуноглобулина ≥ 10 мг/дл и ненормальное соотношение свободных легких цепей иммуноглобулина каппа и лямбда);

участник должен набрать 0, 1 или 2 балла по шкале оценки общего состояния Восточной объединенной онкологической группы (ECOG);

результаты оценки клинических лабораторных параметров до лечения должны соответствовать ус-

тановленным в протоколе значениям во время фазы скрининга;

мужчина, который имеет сексуальные отношения с женщиной, обладающей детородным потенциалом, и которому не выполняли вазэктомию, должен согласиться использовать подходящий способ контрацепции, выбранный исследователем, а также должен согласиться не сдавать сперму во время исследования и в течение 4 месяцев после последней дозы даратумумаба.

Критерии исключения:

участник ранее получал даратумумаб или другие препараты против кластера дифференцировки 38 (против CD38);

участник получал лечение против миеломы в течение 2 недель до дня 1 цикла 1;

по отношению к участнику ранее выполняли аллогенную трансплантацию стволовых клеток; или по отношению к участнику выполняли трансплантацию аутологичных стволовых клеток (ASCT) в течение 12 недель до дня 1 цикла 1;

у участника было диагностировано злокачественное заболевание (за исключением множественной миеломы) в течение 5 лет до дня 1 цикла 1 (исключениями являются сквамозная и базальноклеточная карциномы кожи и

карцинома in situ шейки или злокачественное заболевание, которое по мнению исследователя и при согласовании с назначенным спонсором специалистом по клиническим исследованиям считается излеченным с минимальным риском рецидива);

у участника наблюдаются клинические признаки поражения множественной миеломой мозговых оболочек.

Пол: оба.

Возрастное ограничение: 18 лет.

Участие здоровых добровольцев: нет.

Промежуточные результаты по части 1 (дата прекращения сбора данных: 21 июля 2016 г. в отношении безопасности/демографических данных/анамнеза заболевания и 28 июля 2016 г. в отношении данных об эффективности).

Способы

Пациенты имели RRMM, ранее подвергнутую ≥ 2 типам терапии, включая ингибитор протеасом (PI) и иммуномодулирующее лекарственное средство (IMiD). В части 1 исследования, состоящего из 2 частей, участвовали последовательные когорты с уровнями дозы 1200 мг и 1800 мг DARA для определения рекомендованной п/к дозы для части 2. DARA-PH20 вводили в рамках 4-недельных циклов лечения: один раз в неделю (QW) в течение 8 недель, один раз в две недели (Q2W) в течение 16 недель, а впоследствии один раз в четыре недели (Q4W). DARA-PH20 инфузировали в дозах 1200 мг в 60 мл в течение 20 мин или 1800 мг в 90 мл в течение 30 мин посредством шприцевого насоса в различные участки на животе. Лекарственные средства, вводимые до и/или после инфузии, включали парацетамол, дифенгидрамин, монтелукаст и метилпреднизолон. В части 2 пациенты будут рандомизированы в соотношении 1:1 для получения рекомендованной для фазы 2 дозы (RP2D) DARA-PH20 п/к или DARA в/в (16 мг/кг). RP2D DARA-PH20 будет выбрана на основании совокупного рассмотрения данных о фармакокинетике и безопасности, полученных в части 1, и должна обеспечивать максимальную сывороточную C_{trough} в течение еженедельного дозирования, которая равна или больше C_{trough}, наблюдаемой при введении одобренной в/в дозы 16 мг/кг. Основными оцениваемыми параметрами были C_{trough} DARA до дня 1 цикла 3 и безопасность. Дополнительные оцениваемые параметры включали показатель общего ответа (ORR).

Результаты

На сегодняшний день 41 пациент получил лечение в части 1 DARA-PH20 п/к в дозах 1200 мг (n=8) и 1800 мг (n=33). Связанные с инфузией реакции (IRR) наблюдали у 9/41 пациента (22%), и они чаще всего имели степень тяжести 1/2, включая озноб, лихорадку, дрожь, рвоту, зуд, отек языка, несердечную боль в груди и свистящее дыхание. У одного пациента развилось диспноэ 3-й степени тяжести, а 1 пациента потребовалось госпитализировать в связи с лихорадкой и ознобом (оба 2-й степени) после первой инфузии. Все IRR развивались в течение или в пределах 6 часов после первой п/к инфузии и были купированы антигистаминными, кортикостероидными, противорвотными или бронхорасширяющими препаратами. При последующих инфузиях сообщений о IRR не поступало. В целом профиль нежелательных явлений DARA-PH20 совпадал с таковым у в/в DARA. Связанные с лекарственным средством нежелательные явления 3-й или более высокой степени тяжести наблюдались у 5/41 (12%) пациента и включали усталость (2 пациента), простуду, гипертензию, диспноэ и синдром распада опухоли. П/к введение DARA-PH20 хорошо переносилось в таком участке введения, как брюшная стенка, при этом у 3/41 (7%) пациента наблюдалась эритема, уплотнение или ощущение жжения 1-й степени тяжести. Анализ показал более высокую макс. C_{trough} в когорте 1800 мг по сравнению с макс. C_{trough}, достигнутой после в/в введения DARA (16 мг/кг).

В когорте 1200 мг из 8 пациентов (медиана 5 типов предшествующей терапии [диапазон 2-10]; предшествующая ASCT, 63%; устойчивость только к PI, 0%; устойчивость только к IMiD, 13%; двойная устойчивость к PI и IMiD, 63%) наблюдали ORR, равную 25%, включая 2 частичных ответа (PR). Медианное время до ответа составляло 14 (диапазон 8-20) недель. Среди 17 пациентов с возможностью оценки

ответа в когорте 1800 мг, которым проводили оценки в день 1 цикла 3 (медиана 4 предшествующих типов терапии [диапазон 2-7]; предшествующая ASCT, 76%; устойчивость только к PI, 6%; устойчивость только к IMiD, 12%; двойная устойчивость к PI и IMiD, 65%) наблюдали ORR, равную 41%, состоящую из 3 очень хороших частичных ответов и 4 PR. Медианное время до ответа составляло 4 (диапазон 4-8) недели.

Выводы

DARA-PH20 п/к хорошо переносился и обеспечивал сывороточные остаточные концентрации, которые равны или больше таковых при в/в введении DARA, при этом наблюдалась меньшая частота IRR по сравнению с в/в DARA в течение значительно более короткого времени инфузии. Предварительные данные свидетельствуют о том, что в этой популяции пациентов п/к введение DARA-PH20 может обеспечивать схожие частоты ответов на лечение по сравнению с монотерапией в/в DARA. Для части 2 исследования в качестве RP2D выбирали уровень дозы 1800 мг DARA-PH20. Эти ранние данные подтверждают целесообразность дальнейшего изучения п/к введения DARA в клинических исследованиях.

Пример 3. Разработка комбинированных составов даратумумаба и гиалуронидазы.

Оценивали различные комбинированные составы, чтобы определить общую физико-химическую стабильность и доставку даратумумаба и gHuPH20 в комбинированном препарате. Влияние концентраций активного составляющего и/или эксципиентов в составах оценивали в некоторых исследованиях стабильности и/или исследованиях на животных (в исследованиях стабильности при хранении, стабильности при встряхивании и инфузии свиньям). В табл. 8 приведено краткое описание составов, которые использовали в различных исследованиях.

Таблица 8

Состав	Даратумумаб (мг/мл)	gHuPH20 (Ед/мл)	Гис (мМ)	Сорбит/ сахароза (мМ)	PS20 (% масс./об.)	Мет (мг/мл)	pH
1	100	500	10	300	0,04	2	5,5
2	120	2000	10	300	0,04	1	5,6
3	100	500	10	300	0,0	2	5,5
4	100	500	10	300	0,01	2	5,5
5	100	500	10	300	0,02	2	5,5
6	100	500	10	300	0,06	2	5,5
7	100	0	10	200/100	0,04	0	5,5
8	100	0	10	100/200	0,04	0	5,5
9	100	50	10	300	0,04	1	5,5
10	100	500	10	300	0,04	1	5,5
11	100	2000	10	300	0,04	1	5,5
12	100	5000	10	300	0,04	1	5,5

Гис: гистидин

Мет: метионин.

Диапазоны эксципиентов и активных составляющих в испытуемых составах приведены в табл. 9.

Таблица 9

Компонент состава	Диапазон
gHuPH20	0-2000 Ед/мл
Даратумумаб	100-120 мг/мл
Гистидин	10 ммоль
Сорбит	100-300 мМ
Сахароза	0-200 мМ
Полисорбат-20 (PS20)	0,0-0,04% (масс./об.)
Метионин	0-2 мг/мл

Созданные составы исследовали в различных анализах для определения их характеристик, включая оценку невидимых невооруженным глазом частиц, микропроточную визуализацию (MFI), эксклюзионную хроматографию (SEC), капиллярное изoeлектрическое фокусирование (cIEF), электрофорез в полиакриламидном геле в присутствии додецилсульфата натрия (SDS-PAGE) (невосстанавливающий и восстанавливающий), пептидное картирование, экстрагируемый объем, мутность, осмоляльность и pH.

Невидимые невооруженным глазом частицы (Sub-vis):

совокупность невидимых невооруженным глазом частиц размером > 10 мкм или > 25 мкм обычно представляет собой скопления молекул белка, и ее можно проанализировать с помощью способа светотени НИАС, при котором раствор проходит через небольшое отверстие, а блокада света предоставляет информацию о размере проходящей через него частицы.

MFI: независимая от способа светотени микропроточная визуализация (MFI) позволяет получать моментальные изображения протекающих частиц и выполнять обратное преобразование в число частиц, присутствующих в конкретном объеме жидкости. Этот способ предоставляет информацию о больших скоплениях белков, присутствующих в растворе.

SEC: способ эксклюзионного хроматографического разделения, в котором для распределения молекул внутри протекающего раствора в соответствии с обширным диапазоном размеров используется колонка. Мономеры, скопления и фрагменты элюируют из колонки в разное время и, следовательно, их относительные доли в пробе можно количественно оценить с помощью стандартного УФ-детектора.

cIEF: капиллярная изоэлектрическая фокусировка позволяет распределять молекулы в соответствии с зарядом на молекуле и является хорошим индикатором общей химической стабильности. Например, деамидирование может приводить к изменению заряда молекулы и, таким образом, может быть обнаружено с помощью данного способа. Способ дает представление об общем % кислых, основных и интактных молекул, присутствующих в растворе.

SDS (восстанавливающие и невосстанавливающие условия): способ SDS предоставляет информацию о физической стабильности молекулы. SDS позволяет измерять интактные, агрегированные и фрагментированные компоненты, присутствующие в растворе. Невосстанавливающий SDS предоставляет информацию о соответствующих интактных, агрегированных и фрагментированных составляющих антитела, а восстанавливающий SDS (после разрушения дисульфидных связей) предоставляет ту же информацию для тяжелых и легких цепей антитела.

Пептидное картирование: пептидное картирование представляет собой основной способ изучения первичной структуры белков. В случае рекомбинантных белковых препаратов пептидное картирование используют для начального подтверждения описанной структуры. Пептидное картирование также предоставляет информацию о посттрансляционных модификациях, таких как деамидирование, окисление и т.п.

Экстрагируемый объем: данный способ предоставляет информацию о количестве/объеме жидкости, который можно извлечь из флакона после соответствующей временной отметки.

Мутность: основанный на светорассеянии способ оценки физической стабильности раствора. Увеличение размера частиц или скоплений приводит увеличению сигнала светорассеяния и, следовательно, может использоваться для определения мутности (опалесценции) раствора. Мутность измеряют в нефелометрических единицах мутности (NTU).

Осмоляльность: представляет собой меру общей осмотической активности, которая зависит от общей истинной активности молекул (коэффициент активности, умноженный на концентрацию).

Осмоляльность раствора должна быть приближена к осмоляльности инъектируемой сыворотки.

pH: дает представление об общей стабильности, и важно, чтобы в течение всего срока хранения pH оставался постоянным.

Ферментативная активность gHuPH20: определение активности гиалуронидазы основано на образовании осадка при связывании гиалурононовой кислоты (НА) с подкисленной сывороткой. Активность измеряют путем инкубации гиалуронидазы с НА в течение 30 мин в 96-луночном планшете при температуре 37°C с последующим осаждением нерасщепленной НА посредством добавления подкисленной сыворотки. Итоговую мутность измеряют при 640 нм, а снижение мутности, вызванное ферментативным расщеплением субстрата НА, представляет собой меру активности гиалуронидазы.

Стабильность при хранении состава 1 (100 мг/мл даратумумаба, 10 mM гистидина, 300 mM сорбита, 0,04% PS20, 2 мг/мл метионина, 500 Ед/мл PrHuh20, pH 5,5) оценивали с использованием описанных анализов. Пробы помещали на хранение во флаконы 25R (заполненные до объема 16 мл) при различных температурах (5, 25 и 40°C) и флаконы анализировали с использованием различных анализов, в различные временные отметки (0, 1, 2, 3, 4, 5 и/или 6 месяцев). Данные показывают, что комбинированный продукт является стабильным в вышеуказанных условиях хранения, как в отношении даратумумаба, так и gHuPH20, как показано в различных анализах. Профиль, наблюдаемый для частиц, цвета, мутности, sec и т.п., был очень схожим с таковым у стандартных стабильных антител, а данные сопоставимы с данными о стабильности некоторых коммерческих составов mAb.

В табл. 10 показано число частиц в составе 1 с течением времени при оценке с помощью НИАС.

В табл. 11 показано число частиц в составе 1 с течением времени при оценке с помощью MFI.

В табл. 12 показано значение pH состава 1 с течением времени.

В табл. 13 показана мутность состава 1 с течением времени.

В табл. 14 показана процентная доля скоплений с высокой молекулярной массой и фрагментов с низкой молекулярной массой в составе 1 с течением времени.

В табл. 15 показаны кислые и основные компоненты в составе 1 с течением времени при оценке с помощью cIEF.

В табл. 16 показана чистота в процентах (%) состава 1 с течением времени при оценке с помощью восстанавливающего SDS-PAGE.

В табл. 17 показана чистота в процентах (%) состава 1 с течением времени при оценке с помощью невосстанавливающего SDS-PAGE.

В табл. 18 показана биологическая активность даратумумаба и ферментативная активность rhPN20 в процентах (%) в составе 1 с течением времени.

Таблица 10

Температура хранения (°C)	Среднее суммарное количество/мл частиц размером > 10 мкм или > 25 мкм					
	0 месяцев		3 месяца		6 месяцев	
	≥ 10 мкм	≥ 25 мкм	≥ 10 мкм	≥ 25 мкм	≥ 10 мкм	≥ 25 мкм
5	7,17	6,33	6,5	4,8	42,50	30,83
25	7,17	6,33	5,5	1,8	110,50	81,83
40	7,17	6,33	64,5	44,8		

Таблица 11

	0 месяцев		3 месяца		6 месяцев	
Температура (°C)	5	5	25	40	5	25
Частицы/мл ≥ 2 - < 10 мкм ECD	539	1155	3668	3371	686	3581
Частицы/мл ≥ 10 - < 25 мкм ECD	9,3	39	93	80	36	105
Частицы/мл ≥ 25 - < 70 мкм ECD	1,4	2,6	13	9,3	7,4	7,2
Частицы/мл ≥ 70 мкм ECD	0,5	0,2	0,2	0,2	0,0	0,5

Таблица 12

Температура хранения (°C)	рН в течение времени хранения (месяцы)				
	0 мес.	1 мес.	2 мес.	3 мес.	6 мес.
5	5,7	Н/Д	5,7	5,7	5,6
25	5,7	5,7	5,7	5,7	5,6
40	5,7	5,7	5,6	5,7	Н/Д

мес.: месяц.

Н/Д=нет данных.

Таблица 13

Температура хранения (°C)	Среднее количество NTU в течение времени хранения (месяцы)				
	0 мес.	1 мес.	2 мес.	3 мес.	6 мес.
5	3,5		3,5	3,5	3,4
25	3,5	3,5	3,6	3,7	4,6
40	3,5	4	5,5	8,2	Н/Д

мес.: месяц.

NTU; нефелометрические единицы мутности.

Н/Д=нет данных.

Таблица 14

Время хранения (месяцы)	Температура хранения (°C)	Процентная доля (%) компонентов		
		НМВ	Мономер	LMW
0	5	0,74	99,25	0,01
	25	0,74	99,25	0,01
	40	0,74	99,25	0,01
3	5	0,84	99,16	0,02
	25	1,11	98,75	0,14
	40	1,87	94,50	3,64
6	5	0,89	99,10	Н/Д
	25	1,30	98,38	Н/Д
	40	Н/Д	Н/Д	Н/Д

НМВ: компоненты с высокой молекулярной массой.

LMW: компоненты с низкой молекулярной массой.

Н/Д=нет данных.

Таблица 15

Время хранения (месяцы)	Температура хранения (°C)	Основной пик, %	% кислых пиков	% основных пиков
0	5	69,2	27,8	3
	25	69,2	27,8	3
	40	69,2	27,8	3
3	5	68,2	28,9	2,9
	25	63	32,8	4,2
	40	31,3	60,2	8,5
6	5	68,1	28,7	3,2
	25	55,4	38	6,6
	40	Н/Д	Н/Д	Н/Д

Н/Д=нет данных.

Таблица 16

Температура хранения (°C)	% чистоты в течение времени хранения (в месяцах)				
	0 мес.	1 мес.	2 мес.	3 мес.	6 мес.
5	98,16	Н/Д	97,96	98	98,02
25	98,16	97,87	97,66	97,57	96,75
40	98,16	96,4	95	92,88	Н/Д

мес.: месяц.

Н/Д=нет данных.

Таблица 17

Температура хранения (°C)	% чистоты в течение времени хранения (в месяцах)				
	0	1	2	3	6
5	97,56		97,64	97,64	97,5
25	97,56	97,27	96,97	96,62	95,63
40	97,56	94,84	92,61	89,37	Н/Д

мес.: месяц.

Н/Д=нет данных.

Таблица 18

Молекула	Анализ	Продолжительность и температура хранения		
		0 месяцев	6 месяцев	6 месяцев
			5 °C	25 °C
Даратумумаб	ADCC*	102	103	83
	CDC*	95	101	93
PH20	Ферментативная активность**	574	600 или 584?	609

* Процент от контроля

** Ед/мл.

Оценивали также стабильность при перемешивании (встряхивании) состава 1 с помощью вышеописанных анализов, чтобы оценить составы и исследовать влияние концентраций PS путем изменения только концентраций PS2 0 в этом составе (составы 1, 3, 4, 5 и 6 в табл. 8, где содержание PS20 варьировалось и составляло 0, 0,01, 0,02, 0,04, 0,06%). Данные показали, что комбинированный состав был стабильным в условиях встряхивания, как в отношении даратумумаба, так и фермента, как показано в различных анализах. Профиль, наблюдаемый для частиц, цвета, мутности, sec и т.п., был очень схожим с таковым у стандартных стабильных антител для всех концентраций PS, кроме 0% (состав PS200% содержал частицы и не был стабильным), а данные были сопоставимы с данными о стабильности некоторых коммерческих составов mAb (данные не показаны).

Стабильность при хранении состава 2 (120 мг/мл даратумумаба, 10 mM гистидина, 300 mM сорбита, 0,04% PS20, 1 мг/мл метионина, 2000 Ед/мл rhuPH20, pH 5,5) оценивали с использованием описанных анализов. Пробы помещали на хранение во флаконы 25R, заполненные до объема 13,27 мл, с переполнением (доза 1500 мг) при различных температурах и анализировали с использованием различных описанных ниже анализов. Собранные данные показали, что комбинированный продукт является стабильным в вышеуказанных условиях хранения, как в отношении даратумумаба, так и rHuPH20. Профиль, наблюдаемый для частиц, цвета, мутности, sec и т.п., был очень схожим с таковым у стандартных стабильных антител, а данные были сопоставимы с данными о стабильности некоторых коммерческих составов mAb. rhuPH20 обладает выраженной чувствительностью при высоких температурах и очень быстро полностью теряет активность при хранении при 40°C. В табл. 19 показаны характеристики состава.

Таблица 19

	Продолжительность хранения, температура и относительная влажность (ОВ)		
Характеристики и/или анализ	0 месяцев	1 месяц	1 месяц
	5 °C	40 °C/ 75% ОВ	25 °C/ 60% ОВ
Среднее суммарное количество/мл частиц размером 2-10 мкм	58,89	375,68	4285,81
Среднее суммарное количество/мл частиц размером 10-25 мкм	3,34	12,96	1,98
Среднее суммарное количество/мл частиц размером ≥ 25 мкм	1,23	0,49	0,12
PS20 (% масс./об.)	0,038	0,02	0,03
pH	5,6	5,6	5,6
Мутность (NTU)	5	11	6
% чистоты (сSDS, восстановление)	98,4	98,6	98,1
% AGHC, агликозифицированных тяжелых цепей (сSDS, восстановление)	0,4	0,5	0,4
% чистоты (сSDS, без восстановления)	97,7	95,2	97,7
% мономеров, эксклюзионная ВЭЖХ	99,1	98,0	98,8
% скоплений, эксклюзионная ВЭЖХ	0,9	1,6	1,1
% фрагментов, эксклюзионная ВЭЖХ	< 0,10	0,4	< 0,10
Биологическая активность даратумумаба, CDC (% от контроля)	105	88	99
Биологическая активность даратумумаба, ADCC (% от контроля)	99	73	103
Активность rhuPH20 (Ед/мл)	2205	0	2258

Составы 3-8 исследовали на стабильность при хранении или стабильность при встряхивании с использованием некоторых или всех описанных анализов. Данные показали, что составы 3-8 были стабильными в оцениваемых условиях, как в отношении даратумумаба, так и HuPH20 (составы 7 и 8 не содержали gHuPH20). Метионин был включен в составы 1-6 и 9-12 для обеспечения дополнительной устойчивости к окислению. Профиль, наблюдаемый для частиц, цвета, мутности, sec и т.п., был очень схожим с таковым у стандартных стабильных антител, а данные были сопоставимы с данными о стабильности некоторых коммерческих составов mAb (данные не показаны).

Оценивали также стабильность при перемешивании (встряхивании) состава 1 с помощью вышеописанных анализов, чтобы оценить составы и исследовать влияние концентраций PS20 путем изменения только концентраций PS20 в этом составе (составы 1, 3, 4, 5 и 6 в табл. 8, где содержание PS20 варьировалось и составляло 0, 0,01, 0,02, 0,04, 0,06%). Данные показали, что комбинированный состав был стабильным в условиях встряхивания, как в отношении даратумумаба, так и gHuPH20, как показано в раз-

личных анализах. Профиль, наблюдаемый для частиц, цвета, мутности, сес и т.п., был очень схожим с таковым у стандартных стабильных антител для всех концентраций PS, кроме 0%, и данные были сопоставимы с данными о стабильности некоторых коммерческих составов mAb (данные не показаны).

Составы 9-12 также оценивали в отношении подкожного введения даратумумаба с переменными концентрациями фермента в модели на свиньях, как описано в примере 2. Эти исследования проводили для определения концентрации gHFN20, приемлемой для доставки 16 мл даратумумаба. Оцениваемыми параметрами были давление инфузии, площадь припухлости или волдыря (если поддавалась измерению) и качественная оценка участка. Наблюдала дозозависимое увеличение давления инфузии. Все испытываемые концентрации gHFN20 (50, 500, 2000, 5000 Ед/мл были приемлемыми для доставки 16 мл даратумумаба.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Фармацевтическая композиция для лечения CD38-положительной гематологической злокачественной опухоли и позволяющая уменьшить связанные с инфузией реакции, содержащая около 1800 мг антитела к CD38 и около 30000 Ед гиалуронидазы, где:

а) антитело к CD38 имеет изотип IgG1 и содержит вариабельную область тяжелой цепи (VH) с последовательностью SEQ ID NO: 4 и вариабельную область легкой цепи (LH) с последовательностью SEQ ID NO: 5;

б) гиалуронидаза является рекомбинантной гиалуронидазой gHFN20 и

с) общий объем композиции составляет около 15 мл.

2. Фармацевтическая композиция по п.1, дополнительно содержащая фармацевтически приемлемый носитель.

3. Фармацевтическая композиция по п.1 или 2, в которой антитело к CD38 содержит тяжелую цепь с последовательностью SEQ ID NO: 12 и легкую цепь с последовательностью SEQ ID NO: 13.

4. Фармацевтическая композиция по любому из пп.1-3, дополнительно содержащая:

а) от около 5 до около 50 мМ гистидина и

б) от около 50 до около 400 мМ сорбита.

5. Фармацевтическая композиция по любому из пп.1-4, дополнительно содержащая:

а) около 10 мМ гистидина; около 300 мМ сорбита; около 0,04% мас./об. полисорбата-20 (PS-20) и около 1 мг/мл метионина при pH около 5,6;

б) около 10 мМ гистидина; около 300 мМ сорбита; около 0,04% мас./об. PS-20 и около 2 мг/мл метионина при pH около 5,5;

с) около 10 мМ гистидина; около 300 мМ сорбита; около 0,01% мас./об. PS-20 и около 2 мг/мл метионина при pH около 5,5;

д) около 10 мМ гистидина; около 300 мМ сорбита; около 0,02% мас./об. PS-20 и около 2 мг/мл метионина при pH около 5,5;

е) около 10 мМ гистидина; около 300 мМ сорбита; около 0,06% мас./об. PS-20 и около 2 мг/мл метионина при pH около 5,5; или

ф) около 10 мМ гистидина; около 300 мМ сорбита; около 0,04% мас./об. PS-20 и около 1 мг/мл метионина при pH около 5,5.

6. Фармацевтическая композиция по п.4, дополнительно содержащая от около 0,01 до около 0,1% мас./об. полисорбата-20 (PS-20) и/или от около 0,1 до около 2,5 мг/мл метионина.

7. Фармацевтическая композиция по п.4, дополнительно содержащая от около 0,01 до около 0,04% мас./об. полисорбата-20 (PS-20) и от около 1 до около 2 мг/мл метионина.

8. Фармацевтическая композиция по п.4, дополнительно содержащая от около 0,01 до около 0,04% мас./об. полисорбата-20 (PS-20) и/или от около 0,1 до около 2,5 мг/мл метионина.

9. Фармацевтическая композиция по любому из пп.4-8, содержащая около 10 мМ гистидина и от около 100 до около 300 мМ сорбита.

10. Фармацевтическая композиция по любому из пп.1-9, которая представляет собой единичную дозированную форму.

11. Фармацевтическая композиция по пп.1-10, где CD38-положительная гематологическая злокачественная опухоль представляет собой CD38-позитивную множественную миелому.

12. Единичная дозированная форма для лечения CD38-положительной гематологической злокачественной опухоли, позволяющая уменьшить связанные с инфузией реакции, содержащая:

а) антитело к CD38 с изотипом IgG1, содержащее вариабельную область тяжелой цепи (VH) с последовательностью SEQ ID NO: 4 и вариабельную область легкой цепи (VL) с SEQ ID NO: 5, в количестве от около 1800 мг;

б) гиалуронидазу в количестве около 30000 Ед;

с) гистидин в концентрации от около 5 до около 15 мМ;

д) сорбит в концентрации от около 100 до около 300 мМ;

е) полисорбат-20 (PS-20) в концентрации от около 0,01 до около 0,04% мас./об. и

г) метионин в концентрации от около 1 до около 2 мг/мл при pH около 5,5; где общий объем единичной дозированной формы составляет около 15 мл и где гиалуронидаза является рекомбинантной гиалуронидазой gHuPH20.

13. Единичная дозированная форма по п.12, где

с) гистидин присутствует в концентрации около 10 мМ.

14. Единичная лекарственная форма по п.12 или 13, где сорбит присутствует в концентрации около 300 мМ.

15. Единичная лекарственная форма по пп.12-14, где полисорбат-20 (PS-20) присутствует в концентрации около 0,04% мас./об.

16. Единичная лекарственная форма по пп.12-15, в которой метионин присутствует в концентрации около 1 мг/мл.

17. Единичная лекарственная форма по любому из пп.12-16, дополнительно содержащая сахарозу в концентрации от около 100 до около 200 мМ.

18. Единичная лекарственная форма по любому из пп.12-17, где антитело к CD38 содержит тяжелую цепь с последовательностью SEQ ID NO: 12 и легкую цепь с последовательностью SEQ ID NO: 13.

19. Единичная лекарственная форма для лечения CD38-положительной гематологической злокачественной опухоли и позволяющая уменьшить связанные с инфузией реакции, содержащая:

а) антитело к CD38 с изотипом IgG1, содержащее вариабельную область тяжелой цепи с последовательностью SEQ ID NO: 4 и вариабельную область легкой цепи с последовательностью SEQ ID NO: 5 в количестве около 1800 мг;

б) гиалуронидаза в количестве около 30000 Ед;

с) гистидин в концентрации около 10 мМ;

д) сорбит в концентрации около 300 мМ;

е) полисорбат-20 (PS-20) в концентрации около 0,04% мас./об. и

ф) метионин в концентрации около 1 мг/мл при pH около 5,6; где общий объем единичной лекарственной формы составляет около 15 мл и где гиалуронидаза является рекомбинантной гиалуронидазой gHuPH20.

20. Единичная лекарственная форма по пп.12-19, где CD38-положительная гематологическая злокачественная опухоль представляет собой CD38-позитивную множественную миелому.

21. Способ лечения CD38-положительной гематологической злокачественной опухоли и позволяющая уменьшить связанные с инфузией реакции у индивида, включающий введение фармацевтической композиции по любому из пп.1-11 или единичной дозированной формы по любому из пп.12-20 подкожно индивиду в течение времени, достаточного для лечения CD38-положительной гематологической злокачественной опухоли.

22. Способ по п.21, дополнительно включающий введение второго терапевтического агента.

23. Способ по п.22, где вторым терапевтическим агентом является ингибитор протеасом, алкилирующий агент или производное глутаминовой кислоты, или их комбинации.

24. Способ по п.22, где:

а) ингибитором протеасом является бортезомиб, карфилзомиб или иксазомиб;

б) алкилирующим агентом является бусульфан, циклофосфамид, бендамустин, хлорамбуцил, карбоплатин, цисплатин, темозоломид, мелфалан, кармустин, ломустин, дакарбазин, оксалиплатин, ифосфамид, мехлорэтамин, тиотепу, трабектедин или стрептозоцин и

с) производное глутаминовой кислоты представляет собой леналидомид, талидомид или помалидомид.

25. Способ по п.22, дополнительно включающий введение кортикостероида.

26. Способ по п.25, где кортикостероидом является дексаметазон.

27. Способ по п.25, где кортикостероидом является преднизолон.

28. Способ по п.21, где фармацевтическая композиция дополнительно содержит от около 5 до около 50 мМ гистидина и от около 50 до около 400 мМ сорбита и необязательно дополнительно содержит от около 0,01 до около 0,1% мас./об. полисорбата-20 (PS-20) и/или от около 0,1 до около 2,5 мг/мл метионина.

29. Способ по п.21, где фармацевтическая композиция дополнительно содержит около 10 мМ гистидина и от около 100 до около 300 мМ сорбита и необязательно дополнительно содержит от около 0,01 до около 0,04% мас./об. полисорбата-20 (PS-20) и/или от около 0,1 до около 2 мг/мл метионина.

30. Способ по п.21, где фармацевтическая композиция дополнительно содержит около 25 мМ уксусной кислоты, около 60 мМ хлорида натрия, около 140 мМ маннита и около 0,04% мас./об. полисорбата-20 (PS-20), pH примерно 5,5.

31. Способ по п.21, где фармацевтическая композиция дополнительно содержит около 10 мМ гистидина, около 300 мМ сорбита, около 0,04% мас./об. полисорбата-20 (PS-20) и около 2 мг/мл метионина; pH около 5,5.

32. Способ по п.21, где фармацевтическая композиция дополнительно содержит около 10 мМ гистидина, около 300 мМ сорбита, около 0,04% мас./об. полисорбата-20 (PS-20) и около 1 мг/мл метионина;

pH около 5,6.

33. Способ по пп.21-32, где CD38-положительная гематологическая злокачественная опухоль представляет собой CD38-позитивную множественную миелому.

34. Фармацевтическая комбинация для лечения CD38-положительной гематологической злокачественной опухоли, содержащая около 1800 мг антитела к CD38 и около 30000 ЕД гиалуронидазы, где:

а) антитело к CD38 имеет изотип IgG1 и содержит вариабельную область тяжелой цепи (VH) с последовательностью SEQ ID NO: 4 и вариабельную область легкой цепи (VL) с последовательностью SEQ ID NO: 5;

б) где гиалуронидаза является рекомбинантной гиалуронидазой гHuPH20 и

с) общий объем комбинации составляет около 15 мл.

35. Фармацевтическая комбинация по п.34, где антитело к CD38 и гиалуронидаза объединены в единой единичной лекарственной форме.

36. Фармацевтическая комбинация по п.34, в которой антитело к CD38 и гиалуронидаза находятся в разных единичных лекарственных формах.

37. Фармацевтическая комбинация по п.34, где CD38-положительная гематологическая злокачественная опухоль представляет собой CD38-позитивную множественную миелому.

