(19) Евразийское патентное ведомство

(21) 202391923 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2023.11.07

(22) Дата подачи заявки
2021.12.27

(51) Int. Cl. ***A61K 9/00*** (2006.01)
A61K 38/47 (2006.01)
A61K 39/395 (2006.01)
A61K 47/18 (2017.01)
A61K 47/20 (2006.01)
A61K 47/26 (2006.01)
A61P 31/00 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

(54) КОМПОЗИЦИИ АНТИТЕЛ И СПОСОБЫ ИХ ПРИМЕНЕНИЯ

(31) **63/131,234; 63/131,244; 63/150,465**
(32) **2020.12.28; 2020.12.28; 2021.02.17**
(33) **US**
(86) **PCT/US2021/065254**
(87) **WO 2022/146947 2022.07.07**

(71) Заявитель:
БРИСТОЛ-МАЕРС СКВИББ КОМПАНИ; ГАЛОЗИМ, ИНК. (US)

(72) Изобретатель:
Хуанг Масано, Хосрави Мехрназ, Хаби Томас Артур, Харт Скотт Аарон, Мантри Рао Венкатрамана, Везина Хизер Элизабет, Рой Амит, Мурти Бинду Пурнима, Арас Урви Ашиш, Сингхави Кинжал, Чжао Сяочэнь, Белло Акинтунде (US)

(74) Представитель:
Гизатуллин Ш.Ф., Гизатуллина Е.М., Угрюмов В.М., Строкова О.В., Костюшенкова М.Ю., Джермакян Р.В. (RU)

(57) Изобретение обеспечивает фармацевтические композиции, включающие антитело и по меньшей мере два антиоксиданта. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция составлена для подкожного введения. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция дополнительно включает гидролазный фермент эндогликозидазу. Другие аспекты по настоящему изобретению относятся к способам подкожной доставки фармацевтической композиции.

202391923 A1

202391923 A1

КОМПОЗИЦИИ АНТИТЕЛ И СПОСОБЫ ИХ ПРИМЕНЕНИЯ

ПЕРЕКРЕСТНАЯ ССЫЛКА НА РОДСТВЕННЫЕ ЗАЯВКИ

[0001] В данной заявке испрашивается приоритет и преимущество по предварительной заявке US 63/131234, поданной 28 декабря 2020 г.; US 63/131,244, поданной 28 декабря 2020 г.; и US 63/150,465, поданной 17 февраля 2021 г.; содержание каждой из которых включено в настоящий документ посредством ссылки во всей своей полноте.

ССЫЛКА НА ПЕРЕЧЕНЬ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ, ПРЕДСТАВЛЕННЫЙ В ЭЛЕКТРОННОМ ВИДЕ ЧЕРЕЗ EFS-WEB

[0002] Содержание представленного в электронном виде перечня последовательностей (Название (Name): 3338_191PC03_Список последовательностей (Seqlisting)_ST25.txt; Размер (Size): 1,011,388 байт; и Дата создания (Date of Creation): 27 декабря 2021 г.) включено в настоящий документ посредством ссылки во всей своей полноте.

ОБЛАСТЬ ТЕХНИКИ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[0003] В настоящем изобретении обеспечены фармацевтические композиции содержащие антитела, и способы лечения субъекта, пораженного опухолью, с применением данных композиций.

УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

[0004] Злокачественные опухоли человека являются носителями многочисленных генетических и эпигенетических изменений, генерируя неоантигены, потенциально узнаваемые иммунной системой (Sjoblom *et al.*, Science (2006) 314(5797):268-274). Адаптивная иммунная система, состоящая из Т- и В-лимфоцитов, характеризуется мощным противораковым потенциалом с широкими возможностями отвечать на различные опухолевые антигены с исключительной специфичностью. Кроме того, иммунная система демонстрирует значительную пластичность и компонент памяти. Успешное освоение всех данных атрибутов адаптивной иммунной системы может обеспечить иммунотерапии уникальное положение среди всех способов лечения рака.

[0005] До недавнего времени иммунотерапия злокачественных опухолей сосредотачивала значительные усилия на подходах, которые усиливают

противоопухолевые иммунные ответы с помощью адоптивного переноса активированных эффекторных клеток, иммунизации против соответствующих антигенов или обеспечения неспецифических иммунных стимулирующих средств, таких как цитокины. В последнее десятилетие, однако, интенсивные усилия по разработке специфических ингибиторов контрольных точек иммунного ответа начали обеспечивать новые иммунотерапевтические подходы для лечения злокачественных заболеваний, включая разработку антител, таких как ниволумаб и пембролизумаб (ранее ламбролизумаб; Заявление Совета USAN (USAN Council Statement), 2013), которые специфически связываются с рецептором программируемой смерти-1 (PD-1) и блокируют ингибирующий лигандный путь PD-1/PD-1 (Topalian et al., 2012a, b; Topalian *et al*., 2014; Hamid *et al*., 2013; Hamid and Carvajal, 2013; McDermott and Atkins, 2013).

[0006] Существующие способы доставки анти-PD-1 и/или анти-PD-L1 антител используют периодическое внутривенное введение, осуществляемое врачом, часто в клинике или больнице. Неудобство и инвазивность лечения могут негативно сказаться на самочувствии пациента. Подкожное введение, например, с помощью автоинжектора или носимого насоса, может значительно улучшить соблюдение пациентом режима лечения. Однако в данной области техники по-прежнему существует потребность в составах, включающих анти-PD-1 или анти-PD-L1 антитела, которые подходят для подкожной доставки пациентам.

СУЩНОСТЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[0007] Некоторые аспекты настоящего раскрытия относятся к фармацевтической композиции, включающей (i) антитело, специфически связывающее PD-1 («анти-PD-1 антитело»), (ii) гидролазный фермент эндогликозидазу и (iii) по меньшей мере два антиоксиданта. В некоторых аспектах по меньшей мере один из по меньшей мере двух антиоксидантов является «жертвуемым» антиоксидантом. В некоторых аспектах «жертвуемый» антиоксидант выбран из группы, состоящей из метионина, триптофана и гистидина, цистеина, аскорбиновой кислоты, глицина или других «жертвуемых» средств.

[0008] В некоторых аспектах по меньшей мере один из по меньшей мере двух антиоксидантов содержит хелатор ионов металлов. В некоторых аспектах хелатор ионов металла выбран из пентетовой кислоты («DTPA») и этилендиаминтетрауксусной кислоты (EDTA).

[0009] В некоторых аспектах по меньшей мере два антиоксиданта выбраны из

группы, состоящей из метионина, DTPA и EDTA. В некоторых аспектах один из по меньшей мере двух антиоксидантов представляет собой метионин. В некоторых аспектах одним из по меньшей мере двух антиоксидантов является DTPA. В некоторых аспектах одним из по меньшей мере двух антиоксидантов является EDTA. В некоторых аспектах по меньшей мере два антиоксиданта представляют собой метионин и DTPA. В некоторых аспектах по меньшей мере два антиоксиданта представляют собой метионин и EDTA.

[0010] В некоторых аспектах по меньшей мере один антиоксидант включает по меньшей мере от около 1 до 20 мМ метионина. В некоторых аспектах по меньшей мере один антиоксидант включает по меньшей мере около 1 мМ, по меньшей мере около 1,5 мМ, по меньшей мере около 2 мМ, по меньшей мере около 2,5 мМ, по меньшей мере около 3 мМ, по меньшей мере около 3,5 мМ, по меньшей мере около 4 мМ, по меньшей мере около 4,5 мМ, по меньшей мере около 5 мМ, по меньшей мере около 5,5 мМ, по меньшей мере около 6 мМ, по меньшей мере около 6,5 мМ, по меньшей мере около 7 мМ, по меньшей мере около 7,5 мМ, по меньшей мере около 8 мМ, по меньшей мере около 8,5 мМ, по меньшей мере около 9 мМ, по меньшей мере около 9,5 мМ, по меньшей мере около 10 мМ, по меньшей мере около 11 мМ, по меньшей мере около 12 мМ, по меньшей мере около 13 мМ, по меньшей мере около 14 мМ, по меньшей мере около 15 мМ, по меньшей около 16 мМ, по меньшей около 17 мМ, по меньшей около 18 мМ, по меньшей около 19 мМ или по меньшей мере около 20 мМ метионина. В некоторых аспектах по меньшей мере один антиоксидант включает около 5 мМ метионина.

[0011] В некоторых аспектах по меньшей мере один антиоксидант включает по меньшей мере от около 10 мкМ до около 200 мкМ DTPA. по меньшей мере один антиоксидант включает по меньшей мере около 10 мкМ, по меньшей мере около 15 мкМ, по меньшей мере около 20 мкМ, по меньшей мере около 25 мкМ, по меньшей мере около 30 мкМ, по меньшей мере около 35 мкМ, по меньшей мере около 40 мкМ, по меньшей мере около 45 мкМ, по меньшей мере около 50 мкМ, по меньшей мере около 55 мкМ, по меньшей мере около 60 мкМ, по меньшей мере около 65 мкМ, по меньшей мере около 70 мкМ, по меньшей мере около 75 мкМ, по меньшей мере около 80 мкМ, по меньшей мере около 85 мкМ, по меньшей мере около 90 мкМ, по меньшей мере около 95 мкМ, по меньшей мере около 100 мкМ, по меньшей мере около 110 мкМ, по меньшей мере около 120 мкМ, по меньшей мере около 130 мкМ, по меньшей мере около 140 мкМ, по меньшей мере около 150 мкМ, по меньшей мере около 160

мкМ, по меньшей мере около 170 мкМ, по меньшей мере около 180 мкМ, по меньшей мере около 190 мкМ или по меньшей мере около 200 мкМ DTPA. В некоторых аспектах по меньшей мере один антиоксидант включает около 50 мкМ DTPA.

[0012] В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает от по меньшей мере около 20 мг/мл до по меньшей мере около 200 мг/мл анти-PD-1 антитела. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает от по меньшей мере около 135 мг/мл до по меньшей мере около 180 мг/мл анти-PD-1 антитела. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает от по меньшей мере около 108 мг/мл до по меньшей мере около 132 мг/мл анти-PD-1 антитела. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает по меньшей мере около 20 мг/мл, по меньшей мере около 30 мг/мл, по меньшей мере около 40 мг/мл, по меньшей мере около 50 мг/мл, по меньшей мере около 60 мг/мл, по меньшей мере около 70 мг/мл, по меньшей мере около 80 мг/мл, по меньшей мере около 90 мг/мл, по меньшей мере около 100 мг/мл, по меньшей мере около 110 мг/мл, по меньшей мере около 120 мг/мл, по меньшей мере около 130 мг/мл, по меньшей мере около 140 мг/мл, по меньшей мере около 150 мг/мл, по меньшей мере около 160 мг/мл, по меньшей мере около 170 мг/мл, по меньшей мере около 180 мг/мл, по меньшей мере около 190 мг/мл или по меньшей мере около 200 мг/мл анти-PD-1 антитела. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает около 120 мг/мл анти-PD-1 антитела. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает около 150 мг/мл анти-PD-1 антитела.

[0013] В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает от по меньшей мере около 5 единиц ферментативной активности (ЕД) до по меньшей мере около 100000 ЕД гидролазного фермента эндогликозидазы. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает по меньшей мере около 5 ЕД, по меньшей мере около 10 ЕД, по меньшей мере около 20 ЕД, по меньшей мере около 30 ЕД, по меньшей мере около 40 ЕД, по меньшей мере около 50 ЕД, по меньшей мере около 75 ЕД, по меньшей мере около 100 ЕД, по меньшей мере около 200 ЕД, по меньшей мере около 300 ЕД, по меньшей мере около 400 ЕД, по меньшей мере около 500 ЕД, по меньшей мере около 750 ЕД, по меньшей мере около 1000 ЕД, по меньшей мере около 2000 ЕД, по меньшей мере около 3000 ЕД, по меньшей мере около 4000 ЕД, по меньшей мере около 5000 ЕД, по меньшей мере около 6000 ЕД, по меньшей мере около 7000 ЕД, по меньшей мере около 8000 ЕД, по меньшей мере около 9000 ЕД, по меньшей мере около 10000 ЕД, по меньшей мере около 20000 ЕД, по меньшей мере

около 30000 ЕД, по меньшей мере около 40000 ЕД, по меньшей мере около 50000 ЕД, по меньшей мере около 60000 ЕД, по меньшей мере около 70000 ЕД, по меньшей мере около 80000 ЕД, по меньшей мере около 90000 ЕД или по меньшей мере около 100000 ЕД гидролазного фермента эндогликозидазы. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает около 20000 ЕД гидролазного фермента эндогликозидазы. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает от по меньшей мере около 500 Ед/мл до по меньшей мере около 5000 Ед/мл гидролазного фермента эндогликозидазы. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает по меньшей мере около 1500 Ед/мл, по меньшей мере около 1600 Ед/мл, по меньшей мере около 1700 Ед/мл, по меньшей мере около 1800 Ед/мл, по меньшей мере около 1900 Ед/мл, по меньшей мере около 2000 Ед/мл, по меньшей мере около 2100 Ед/мл, по меньшей мере около 2200 Ед/мл, по меньшей мере около 2300 Ед/мл, по меньшей мере около 2400 Ед/мл, по меньшей мере около 2500 Ед/мл, по меньшей мере около 3000 Ед/мл, по меньшей мере около 3500 Ед/мл, по меньшей мере около 4000 Ед/мл, по меньшей мере около 4500 Ед/мл или по меньшей мере около 5000 Ед/мл гидролазного фермента эндогликозидазы. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает около 2000 Ед/мл гидролазного фермента эндогликозидазы.

[0014] В некоторых аспектах гидролазный фермент эндогликозидаза расщепляет гиалуроновую кислоту по гексозаминидной β (1-4) или (1-3) связи. В некоторых аспектах гидролазный фермент эндогликозидаза включает каталитический домен гиалуронидазы PH-20 (HuPH20), HYAL1, HYAL2, HYAL3, HYAL4 или HYALPS1. В некоторых аспектах гидролазный фермент эндогликозидаза включает аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере около 70%, по меньшей мере около 75%, по меньшей мере около 80%, по меньшей мере около 85%, по меньшей мере около 90%, по меньшей мере около 95%, по меньшей мере около 96%, по меньшей мере около 97%, по меньшей мере около 98%, по меньшей мере около 99% или около 100% идентичности последовательности по аминокислотам 36-490 из SEQ ID NO: 1. В некоторых аспектах гидролазный фермент эндогликозидаза включает гиалуронидазу. В некоторых аспектах гидролазный фермент эндогликозидаза включает гиалуронидазу, выбранную из группы, состоящей из HuPH20, HYAL1, HYAL2, HYAL3, HYAL4, любого их варианта и любой их изоформы. В некоторых аспектах гидролазный фермент эндогликозидаза включает rHuPH20 или его фрагмент.

[0015] В некоторых аспектах гидролазный фермент эндогликозидаза включает

модифицированную гиалуронидазу, содержащую одну или более аминокислотных замен по отношению к гиалуронидазе дикого типа, выбранной из группы, состоящей из HuPH20, HYAL1, HYAL2, HYAL3, HYAL4, HYALPS1 или их фрагмента. В некоторых аспектах гидролазный фермент эндогликозидаза включает модифицированную гиалуронидазу, содержащую одну или более аминокислотных замен в области альфа-спирали по отношению к гиалуронидазе дикого типа, выбранной из группы, состоящей из HuPH20, HYAL1, HYAL2, HYAL3, HYAL4, HYALPS1 или их фрагмента. В некоторых аспектах гидролазный фермент эндогликозидаза включает модифицированную гиалуронидазу, включающую одну или более аминокислотных замен в линкерной области относительно гиалуронидазы дикого типа, выбранной из группы, состоящей из HuPH20, HYAL1, HYAL2, HYAL3, HYAL4, HYALPS1 или их фрагмента. В некоторых аспектах гидролазный фермент эндогликозидаза включает модифицированную гиалуронидазу, в которой одна или более N-концевых и/или C-концевых аминокислот удалены относительно гиалуронидазы дикого типа, выбранной из группы, состоящей из HuPH20, HYAL1, HYAL2, HYAL3, HYAL4, HYALPS1 или их фрагмента. В некоторых аспектах гидролазный фермент эндогликозидаза включает модифицированный rHuPH20, при этом модифицированный rHuPH20 включает: i. одну или более аминокислотных замен в области альфа-спирали, области линкера или как области альфа-спирали, так и области линкера относительно rHuPH20 дикого типа; ii. делецию одной или более N-концевой аминокислоты, одной или более C-концевой аминокислоты или одной или более N-концевой аминокислоты и одной или более C-концевой аминокислоты относительно rHuPH20 дикого типа; или iii. как и (i), так и (ii).

[0016] В некоторых аспектах фармацевтическая композиция дополнительно включает модификатор тоничности и/или стабилизатор. В некоторых аспектах модификатор тоничности и/или стабилизатор включает сахар, аминокислоту, полиол, соль или их комбинацию. В некоторых аспектах модификатор тоничности и/или стабилизатор включает сахарозу, сорбит, трегалозу, маннит, глицерин, глицин, лейцин, изолейцин, хлорид натрия, пролин, аргинин, гистидин или любую их комбинацию. В некоторых аспектах модификатор тоничности включает сахарозу. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает от по меньшей мере около 10 мМ до по меньшей мере около 500 мМ сахарозы. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает по меньшей мере около 10 мМ, по меньшей мере около 20 мМ, по меньшей мере около 30 мМ, по меньшей мере около 40 мМ, по

меньшей мере около 50 мМ, по меньшей мере около 60 мМ, по меньшей мере около 70 мМ, по меньшей мере около 80 мМ, по меньшей мере около 90 мМ, по меньшей мере около 100 мМ, по меньшей мере около 110 мМ, по меньшей мере около 120 мМ, по меньшей мере около 130 мМ, по меньшей мере около 140 мМ, по меньшей мере около 150 мМ, по меньшей мере около 160 мМ, по меньшей мере около 170 мМ, по меньшей мере около 180 мМ, по меньшей мере около 190 мМ, по меньшей мере около 200 мМ, по меньшей мере около 210 мМ, по меньшей мере около 220 мМ, по меньшей мере около 230 мМ, по меньшей мере около 240 мМ, по меньшей мере около 250 мМ, по меньшей мере около 260 мМ, по меньшей мере около 270 мМ, по меньшей мере около 280 мМ, по меньшей мере около 290 мМ, по меньшей мере около 300 мМ, по меньшей мере около 310 мМ, по меньшей мере около 320 мМ, по меньшей мере около 330 мМ, по меньшей мере около 340 мМ, по меньшей мере около 350 мМ, по меньшей мере около 360 мМ, по меньшей мере около 370 мМ, по меньшей мере около 380 мМ, по меньшей мере около 390 мМ, по меньшей мере около 400 мМ, по меньшей мере около 410 мМ, по меньшей мере около 420 мМ, по меньшей мере около 430 мМ, по меньшей мере около 440 мМ, по меньшей около 450 мМ, по меньшей около 460 мМ, по меньшей около 470 мМ, по меньшей около 480 мМ, по меньшей мере около 490 мМ или по меньшей мере около 500 мМ сахарозы. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает около 250 мМ сахарозы.

[0017] В некоторых аспектах фармацевтическая композиция дополнительно включает буферный агент. В некоторых аспектах буферный агент выбран из гистидина, сукцината, трометамина, фосфата натрия, ацетата натрия и цитрата натрия. В некоторых аспектах буферный агент включает гистидин. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает от по меньшей мере около 5 мМ до по меньшей мере около 100 мМ гистидина. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает по меньшей мере около 5 мМ, по меньшей мере около 10 мМ, по меньшей мере около 15 мМ, по меньшей мере около 20 мМ, по меньшей мере около 25 мМ, по меньшей мере около 30 мМ, по меньшей мере около 35 мМ, по меньшей мере около 40 мМ, по меньшей мере около 45 мМ, по меньшей мере около 50 мМ, по меньшей мере около 60 мМ, по меньшей мере около 70 мМ, по меньшей мере около 80 мМ, по меньшей мере около 90 мМ или по меньшей мере около 100 мМ гистидина. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает около 20 мМ гистидина.

[0018] В некоторых аспектах фармацевтическая композиция дополнительно

включает поверхностно-активное вещество. В некоторых аспектах поверхностно-активное вещество выбрано из группы, состоящей из полисорбата 20, полисорбата 80 и полоксамера 188. В некоторых аспектах поверхностно-активное вещество включает полисорбат 80. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает от по меньшей мере около 0,01% масс./об. до по меньшей мере около 0,1% масс./об. полисорбата 80. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает по меньшей мере около 0,01% масс./об., по меньшей мере около 0,02% масс./об., по меньшей мере около 0,03% масс./об., по меньшей мере около 0,04% масс./об., по меньшей мере около 0,05% масс./об., по меньшей мере около 0,06% масс./об., по меньшей мере около 0,07% масс./об., по меньшей мере около 0,08% масс./об., по меньшей мере около 0,09% масс./об. или по меньшей мере около 0,1% масс./об. полисорбата 80. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает около 0,05% масс./об. полисорбата 80.

[0019] В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает: (a) около 120 мг/мл анти-PD-1 антитела; (b) около 20 мМ гистидина; (c) около 250 мМ сахарозы; (d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80; (e) около 50 мкМ пентетовой кислоты; (f) около 5 мМ метионина; и (g) около 0,0182 мг/мл rHuPH20. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает: (a) около 120 мг/мл анти-PD-1 антитела; (b) около 20 мМ гистидина; (c) около 250 мМ сахарозы; (d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80; (e) около 50 мкМ пентетовой кислоты; (f) около 5 мМ метионина; и (g) около 2000 Ед/мл rHuPH20. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает: (a) около 150 мг/мл анти-PD-1 антитела; (b) около 20 мМ гистидина; (c) около 250 мМ сахарозы; (d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80; (e) около 50 мкМ пентетовой кислоты; (f) около 5 мМ метионина; и (g) около 0,0182 мг/мл rHuPH20. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает: (a) около 150 мг/мл анти-PD-1 антитела; (b) около 20 мМ гистидина; (c) около 250 мМ сахарозы; (d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80; (e) около 50 мкМ пентетовой кислоты; (f) около 5 мМ метионина; и (g) около 2000 Ед/мл rHuPH20.

[0020] В некоторых аспектах анти-PD-1 антитело выбрано из ниволумаба, пембролизумаба, PDR001, MEDI-0680, цемиплимаба, торипалимаба, тислизумаба, INCSHR1210, TSR-042, GLS-010, AM-0001, STI-1110, AGEN2034, MGA012, BCD-100, IBI308, сасанлимаба и любой их комбинации. В некоторых аспектах анти-PD-1 антитело представляет собой ниволумаб. В некоторых аспектах анти-PD-1 антитело представляет собой пембролизумаб.

[0021] В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает: (a) около 120 мг/мл ниволумаба; (b) около 20 мМ гистидина; (c) около 250 мМ сахарозы; (d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80; (e) около 50 мкМ пентетовой кислоты; (f) около 5 мМ метионина; и (g) около 0,0182 мг/мл rHuPH20. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает: (a) около 120 мг/мл ниволумаба; (b) около 20 мМ гистидина; (c) около 250 мМ сахарозы; (d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80; (e) около 50 мкМ пентетовой кислоты; (f) около 5 мМ метионина; и (g) около 2000 Ед/мл rHuPH20. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает: (a) около 150 мг/мл ниволумаба; (b) около 20 мМ гистидина; (c) около 250 мМ сахарозы; (d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80; (e) около 50 мкМ пентетовой кислоты; (f) около 5 мМ метионина; и (g) около 0,0182 мг/мл rHuPH20. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает: (a) около 150 мг/мл ниволумаба; (b) около 20 мМ гистидина; (c) около 250 мМ сахарозы; (d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80; (e) около 50 мкМ пентетовой кислоты; (f) около 5 мМ метионина; и (g) около 2000 Ед/мл rHuPH20. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает: (a) около 672 мг ниволумаба; (b) около 8,68 мг гистидина; (c) около 11,8 мг гистидина HCl H2O; (d) около 479 мг сахарозы; (e) около 2.80 мг полисорбата 80; (f) около 0,110 мг пентетовой кислоты; (g) около 4,18 мг метионина; (h) около 0,102 мг rHuPH20; где (a)-(h) восстанавливаются в воде до конечного объема по меньшей мере около 5,6 мл.

[0022] В некоторых аспектах фармацевтическая композиция имеет pH от около 5,2 до около 6,8. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция имеет pH около 5,2, около 5,3, около 5,4, около 5,5, около 5,6, около 5,7, около 5,8, около 5,9, около 6,0, около 6,1, около 6,2, около 6,3, около 6,4, около 6,5, около 6,6, около 6,7 или около 6,8. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция имеет pH около 6,0.

[0023] В некоторых аспектах фармацевтическая композиция дополнительно включает второе терапевтическое средство. В некоторых аспектах второе терапевтическое средство представляет собой антитело. В некоторых аспектах второе терапевтическое средство представляет собой ингибитор контрольной точки. В некоторых аспектах ингибитор контрольной точки представляет собой анти-CTLA-4 антитело, анти-LAG-3 антитело, анти-TIM3 антитело, анти-TIGIT антитело, анти-NKG2a антитело, анти-OX40 антитело, анти-ICOS антитело, анти-MICA антитело, анти-CD137 антитело, анти-KIR антитело, анти-TGFβ антитело, анти-IL-10 антитело, анти-IL-8 антитело, анти-B7-H4 антитело, анти-Fas-лиганд антитело, анти CXCR4 антитело, анти-мезотелин антитело, анти-CD27 антитело, анти-GITR или любую их

комбинацию. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция дополнительно включает третье терапевтическое средство. В некоторых аспектах второе терапевтическое средство, третье терапевтическое средство или оба включают IL-2 (например, бемпегалдеслейкин) или IL12-Fc (например, BMS-986415).

[0024] В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает: (a) около 120 мг/мл ниволумаба; (b) около 20 мМ гистидина; (c) около 250 мМ сахарозы; (d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80; (e) около 50 мкМ пентетовой кислоты; (f) около 5 мМ метионина; (g) около 2000 Ед/мл rHuPH20; и (h) анти-CTLA-4 антитело. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает: (a) около 150 мг/мл ниволумаба; (b) около 20 мМ гистидина; (c) около 250 мМ сахарозы; (d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80; (e) около 50 мкМ пентетовой кислоты; (f) около 5 мМ метионина; (g) около 2000 Ед/мл rHuPH20; и (h) анти-CTLA-4 антитело. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает: (a) около 120 мг/мл ниволумаба; (b) около 20 мМ гистидина; (c) около 250 мМ сахарозы; (d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80; (e) около 50 мкМ пентетовой кислоты; (f) около 5 мМ метионина; (g) около 2000 Ед/мл rHuPH20; и (h) анти-LAG-3 антитело. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает: (a) около 150 мг/мл ниволумаба; (b) около 20 мМ гистидина; (c) около 250 мМ сахарозы; (d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80; (e) около 50 мкМ пентетовой кислоты; (f) около 5 мМ метионина; (g) около 2000 Ед/мл rHuPH20; и (h) анти-LAG-3 антитело. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает: (a) около 120 мг/мл ниволумаба; (b) около 20 мМ гистидина; (c) около 250 мМ сахарозы; (d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80; (e) около 50 мкМ пентетовой кислоты; (f) около 5 мМ метионина; (g) около 2000 Ед/мл rHuPH20; и (h) анти-TIM3 антитело. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает: (a) около 150 мг/мл ниволумаба; (b) около 20 мМ гистидина; (c) около 250 мМ сахарозы; (d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80; (e) около 50 мкМ пентетовой кислоты; (f) около 5 мМ метионина; (g) около 2000 Ед/мл rHuPH20; и (h) анти-TIM3 антитело.

[0025] Некоторые аспекты настоящего раскрытия относятся к флакону, содержащему любую фармацевтическую композицию, раскрытую в настоящем документе.

[0026] Некоторые аспекты настоящего раскрытия относятся к шприцу, содержащему любую фармацевтическую композицию, раскрытую в настоящем документе. Некоторые аспекты настоящего раскрытия относятся к автоинжектору,

содержащему любую фармацевтическую композицию, раскрытую в настоящем документе.

[0028] Некоторые аспекты настоящего раскрытия относятся к носимому насосу, содержащему любую фармацевтическую композицию, раскрытую в настоящем документе. В некоторых аспектах шприц дополнительно включает в себя плунжер.

[0029] Некоторые аспекты настоящего раскрытия относятся к способу лечения заболевания или расстройства у субъекта, нуждающегося в этом, включающему введение субъекту фармацевтически эффективного количества любой фармацевтической композиции, раскрытой в настоящем документе. В некоторых аспектах фармацевтическую композицию вводят подкожно.

[0030] В некоторых аспектах заболевание или расстройство является инфекционным заболеванием. В некоторых аспектах заболевание или расстройство представляет собой рак. В некоторых аспектах рак выбран из плоскоклеточной карциномы, мелкоклеточного рака легкого (МРЛ), немелкоклеточного рака легкого (НМРЛ), сквамозного НМРЛ, несквамозного НМРЛ, глиомы, рака желудочно-кишечного тракта, рака почек, прозрачно-клеточной карциномы, рака яичников, рака печени, колоректального рака, рака эндометрия, рака почек, почечно-клеточной карциномы (ПКР), рака простаты, гормонорефрактерной аденокарциномы простаты, рака щитовидной железы, нейробластомы, рака поджелудочной железы, глиобластомы, мультиформной глиобластомы, рака шейки матки, рака желудка, рака мочевого пузыря, гепатомы, рака молочной железы, карциномы толстой кишки, рака головы и шеи, рака желудка, герминогенной опухоли, детской саркомы, синоназального естественного киллера, меланомы, рака костей, рака кожи, рака матки, рака анальной области, рака яичек, карциномы фаллопиевых труб, карциномы эндометрия, карциномы шейки матки, карциномы влагалища, карциномы вульвы, рака пищевода, рака тонкой кишки, рака эндокринной системы, рака паращитовидной железы, рака надпочечников, саркомы мягких тканей, рака уретры, рака полового члена, рака прямой кишки, солидных опухолей детского возраста, рака мочеточника, карциномы почечной лоханки, новообразования центральной нервной системы (ЦНС), первичной лимфомы ЦНС, опухолевого ангиогенеза, опухоли оси позвоночника, рака мозга, глиомы ствола мозга, аденомы гипофиза, саркомы Капоши, эпидермоидного рака, плоскоклеточного рака, рака, вызванного окружающей средой, включая рак, вызванный асбестом, рака, связанного с вирусами, или рака вирусного происхождения

(например, вирус папилломы человека (опухоли, связанные с ВПЧ или вызванные ВПЧ)) и любой их комбинации.

[0031] Некоторые аспекты настоящего раскрытия относятся к способу лечения нуждающегося в этом субъекта, включающему подкожное введение субъекту эффективной дозы фармацевтической композиции, включающей антитело, которое специфически связывает PD-1 или PD-L1 и ингибирует взаимодействие PD-1 и PD-L1 («анти-PD-1 антитело» или «анти-PD-L1 антитело», соответственно); при этом эффективная доза включает одну или более единичных доз для подкожного введения, где по меньшей мере одна из единичных доз для подкожного введения имеет общий объем менее чем около 5 мл, менее чем около 4,5 мл, менее чем около 4,0 мл, менее чем около 3,5 мл, менее чем около 3,0 мл, менее чем около 3 мл или менее чем около 2,5 мл; и где эффективная доза включает от по меньшей мере около 250 мг до по меньшей мере около 2400 мг антитела. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция не включает гиалуронидазу.

[0032] В некоторых аспектах эффективная доза включает две или более единичные дозы для подкожного введения, где две или более единичные дозы для подкожного введения вводятся одновременно или последовательно. В некоторых аспектах две или более единичные дозы для подкожного введения вводятся последовательно, при этом каждая из двух или более единичных доз для подкожного введения вводится с интервалом около 10 минут, около 15 минут, около 20 минут, около 30 минут, около 45 минут, около одного часа, около двух часов, около трех часов, около четырех часов, около пяти часов, около шести часов, около девяти часов, около двенадцати часов, около восемнадцати часов или около двадцати четырех часов между двумя или более единичными дозами для подкожного введения. В некоторых аспектах эффективную дозу вводят приблизительно каждые одну, две, три или четыре недели.

[0033] В некоторых аспектах антитело включает анти-PD-1 антитело. В некоторых аспектах эффективная доза антитела составляет от около 250 мг до около 600 мг антитела, вводимого приблизительно каждую неделю. В некоторых аспектах эффективная доза антитела составляет около 250 мг, около 260 мг, около 270 мг, около 280 мг, около 290 мг, около 300 мг, около 310 мг, около 320 мг, около 330 мг, около 340 мг, около 350 мг, около 360 мг, около 370 мг, около 380 мг, около 390 мг, около 400 мг, около 410 мг, около 420 мг, около 430 мг, около 440 мг, около 450 мг, около 460 мг, около 470 мг, около 480 мг, около 490 мг, около 500 мг, около 510 мг, около

520 мг, около 530 мг, около 540 мг, около 550 мг, около 560 мг, около 570 мг, около 580 мг, около 590 мг или около 600 мг, вводимых приблизительно каждую неделю. В некоторых аспектах эффективная доза антитела составляет около 300 мг, вводимых приблизительно каждую неделю. В некоторых аспектах эффективная доза антитела включает однократную единичную дозу для подкожного введения около 300 мг. В некоторых аспектах эффективная доза антитела включает однократную единичную дозу для подкожного введения около 300 мг в общем объеме вводимого препарата около 2 мл.

[0034] В некоторых аспектах эффективная доза антитела включает (i) две единичные дозы для подкожного введения, где каждая из двух единичных доз для подкожного введения включает около 150 мг антитела; или (ii) три единичные дозы для подкожного введения, где каждая из трех единичных доз для подкожного введения включает около 100 мг антитела. В некоторых аспектах (i) по меньшей мере одна из двух единичных доз для подкожного введения включает около 150 мг антитела в общем объеме менее чем около 5 мл; и (ii) по меньшей мере одна из трех единичных доз для подкожного введения включает около 100 мг антитела в общем объеме около 2 мл. В некоторых аспектах (i) две единичные дозы для подкожного введения вводятся субъекту в два разных места тела или (ii) по меньшей мере две из трех единичных доз для подкожного введения вводятся субъекту по меньшей мере в два разных места тела.

[0035] В некоторых аспектах эффективная доза антитела составляет от около 300 мг до около 900 мг, вводимых приблизительно каждые две недели. В некоторых аспектах эффективная доза антитела составляет около 300 мг, около 350 мг, около 400 мг, около 450 мг, около 500 мг, около 510 мг, около 520 мг, около 530 мг, около 540 мг, около 550 мг, около 560 мг, около 570 мг, около 580 мг, около 590 мг, около 600 мг, около 610 мг, около 620 мг, около 630 мг, около 640 мг, около 650 мг, около 660 мг, около 670 мг, около 680 мг, около 690 мг, около 700 мг, около 710 мг, около 720 мг, около 730 мг, около 740 мг, около 750 мг, около 760 мг, около 770 мг, около 780 мг, около 790 мг, около 800 мг, около 810 мг, около 820 мг, около 830 мг, около 840 мг, около 850 мг, около 860 мг, около 870 мг, около 880 мг, около 890 мг или около 900 мг, вводимых приблизительно каждые две недели. В некоторых аспектах эффективная доза антитела составляет около 600 мг, вводимых приблизительно каждые две недели.

[0036] В некоторых аспектах эффективная доза антитела включает однократную единичную дозу для подкожного введения. В некоторых аспектах

эффективная доза антитела включает две, три или по меньшей мере четыре единичные дозы для подкожного введения. В некоторых аспектах эффективная доза антитела включает две единичные дозы для подкожного введения, где каждая из двух единичных доз для подкожного введения включает около 300 мг антитела. В некоторых аспектах по меньшей мере одна из двух единичных доз для подкожного введения включает около 300 мг антитела в общем объеме около 2 мл. В некоторых аспектах по меньшей мере две из единичных доз для подкожного введения вводятся субъекту по меньшей мере в два разных места тела.

[0037] В некоторых аспектах эффективная доза антитела составляет от около 900 мг до около 1500 мг, вводимых приблизительно каждые четыре недели. В некоторых аспектах эффективная доза антитела составляет около 900 мг, около 950 мг, около 1000 мг, около 1010 мг, около 1020 мг, около 1030 мг, около 1040 мг, около 1050 мг, около 1060 мг, около 1070 мг, около 1080 мг, около 1090 мг, около 1100 мг, около 1110 мг, около 1120 мг, около 1130 мг, около 1140 мг, около 1150 мг, около 1160 мг, около 1170 мг, около 1180 мг, около 1190 мг, около 1200 мг, около 1210 мг, около 1220 мг, около 1230 мг, около 1240 мг, около 1250 мг, около 1260 мг, около 1270 мг, около 1280 мг, около 1290 мг, около 1300 мг, около 1310 мг, около 1320 мг, около 1330 мг, около 1340 мг, около 1350 мг, около 1360 мг, около 1370 мг, около 1380 мг, около 1390 мг, около 1400 мг, около 1410 мг, около 1420 мг, около 1430 мг, около 1440 мг, около 1450 мг, около 1460 мг, около 1470 мг, около 1480 мг, около 1490 мг или около 1500 мг, вводимых приблизительно каждые четыре недели. В некоторых аспектах эффективная доза антитела составляет около 1200 мг, вводимых приблизительно каждые четыре недели. В некоторых аспектах эффективная доза антитела включает две, три, четыре, шесть или по меньшей мере восемь единичных доз для подкожного введения. В некоторых аспектах эффективная доза антитела включает четыре единичные дозы для подкожного введения, где каждая из четырех единичных доз для подкожного введения включает около 300 мг антитела. В некоторых аспектах по меньшей мере одна из четырех единичных доз для подкожного введения включает около 300 мг антитела в общем объеме около 2 мл. В некоторых аспектах по меньшей мере две из единичных доз для подкожного введения вводятся субъекту по меньшей мере в два разных места тела. В некоторых аспектах две, три, четыре, шесть или по меньшей мере восемь единичных доз для подкожного введения вводятся в один и тот же день.

[0038] В некоторых аспектах антитело включает анти-PD-L1 антитело. В

некоторых аспектах эффективная доза антитела составляет от около 900 мг до около 1800 мг антитела, вводимого приблизительно каждые две недели. В некоторых аспектах эффективная доза антитела составляет около 900 мг, около 950 мг, около 1000 мг, около 1010 мг, около 1020 мг, около 1030 мг, около 1040 мг, около 1050 мг, около 1060 мг, около 1070 мг, около 1080 мг, около 1090 мг, около 1100 мг, около 1110 мг, около 1120 мг, около 1130 мг, около 1140 мг, около 1150 мг, около 1160 мг, около 1170 мг, около 1180 мг, около 1190 мг, около 1200 мг, около 1210 мг, около 1220 мг, около 1230 мг, около 1240 мг, около 1250 мг, около 1260 мг, около 1270 мг, около 1280 мг, около 1290 мг, около 1300 мг, около 1310 мг, около 1320 мг, около 1330 мг, около 1340 мг, около 1350 мг, около 1360 мг, около 1370 мг, около 1380 мг, около 1390 мг, около 1400 мг, около 1410 мг, около 1420 мг, около 1430 мг, около 1440 мг, около 1450 мг, около 1460 мг, около 1470 мг, около 1480 мг, около 1490 мг или около 1500 мг, вводимых приблизительно каждые две недели. В некоторых аспектах эффективная доза антитела составляет около 1200 мг приблизительно каждые две недели. В некоторых аспектах эффективная доза включает по меньшей мере две, по меньшей мере три, по меньшей мере четыре, по меньшей мере пять, по меньшей мере шесть, по меньшей мере семь или по меньшей мере восемь единичных доз для подкожного введения. В некоторых аспектах эффективная доза антитела включает четыре единичные дозы для подкожного введения, где каждая из четырех единичных доз для подкожного введения включает около 300 мг антитела. В некоторых аспектах по меньшей мере одна из четырех единичных доз для подкожного введения включает около 300 мг антитела в общем объеме около 2 мл. В некоторых аспектах по меньшей мере две из единичных доз для подкожного введения вводятся субъекту по меньшей мере в два разных места тела. В некоторых аспектах две, три, четыре, пять, шесть, семь или по меньшей мере восемь единичных доз для подкожного введения вводятся в один и тот же день.

[0039] В некоторых аспектах анти-PD-1 антитело включает антитело, включающее ниволумаб, пембролизумаб, PDR001, MEDI-0680, цемиплимаб, торипалимаб, тислелизумаб, INCSHR1210, TSR-042, GLS-010, AM-0001, STI-1110, AGEN2034, MGA012, BCD-100, IBI308, KN035, сасанлимаб или любую их комбинацию. В некоторых аспектах анти-PD-1 антитело перекрестно конкурирует с ниволумабом за связывание с PD-1 человека. В некоторых аспектах анти-PD-1 антитело включает ниволумаб. В некоторых аспектах анти-PD-1 антитело включает пембролизумаб.

[0040] В некоторых аспектах анти-PD-L1 антитело включает антитело, включающее BMS-936559, атезолизумаб, дурвалумаб, авелумаб, STI-1014, CX-072, KN035, LY3300054, BGB-A333, CK-301 или любую их комбинацию.

[0041] В некоторых аспектах субъект поражен раком. В некоторых аспектах рак включает плоскоклеточную карциному, мелкоклеточный рак легких (МРЛ), немелкоклеточный рак легких (НМРЛ), сквамозный НМРЛ, несквамозный НМРЛ, глиому, рак желудочно-кишечного тракта, рак почек, прозрачно-клеточную карциному, рак яичников, рак печени, колоректальный рак, рак эндометрия, рак почек, почечно-клеточную карциному (ПКР), рак простаты, гормонорефрактерную аденокарциному простаты, рак щитовидной железы, нейробластому, рак поджелудочной железы, глиобластому, мультиформную глиобластому, рак шейки матки, рак желудка, рак мочевого пузыря, гепатому, рак молочной железы, карциному толстой кишки, рак головы и шеи, рак желудка, герминогенную опухоль, детскую саркому, синоназальный естественный киллер, меланому, рак костей, рак кожи, рак матки, рак анальной области, рак яичек, карциному фаллопиевых труб, карциному эндометрия, карциному шейки матки, карциному влагалища, карциному вульвы, рак пищевода, рак тонкой кишки, рак эндокринной системы, рак паращитовидной железы, рак надпочечников, саркому мягких тканей, рак уретры, рак полового члена, рак прямой кишки, солидные опухоли детского возраста, рак мочеточника, карциному почечной лоханки, новообразования центральной нервной системы (ЦНС), первичную лимфому ЦНС, опухолевый ангиогенез, опухоль оси позвоночника, рак мозга, глиому ствола мозга, аденому гипофиза, саркому Капоши, эпидермоидный рак, плоскоклеточный рак, рак, вызванный окружающей средой, включая рак, вызванный асбестом, рак, связанный с вирусами, или рак вирусного происхождения (например, вирус папилломы человека (опухоли, связанные с ВПЧ или вызванные ВПЧ)) или любую их комбинацию.

[0042] В некоторых аспектах фармацевтическая композиция вводится с помощью автоинжектора. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция вводится с помощью носимого насоса. В некоторых аспектах фармацевтическую композицию вводят субъекту подкожной инфузией в течение менее чем около 10 минут. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция вводится субъекту подкожной инфузией в течение менее чем около 5 минут.

[0043] В некоторых аспектах фармацевтическая композиция дополнительно включает по меньшей мере два антиоксиданта. В некоторых аспектах по меньшей мере

два антиоксиданта выбраны из метионина, триптофана, гистидина, цистеина, аскорбиновой кислоты, глицина, DTPA и EDTA. В некоторых аспектах по меньшей мере два антиоксиданта включают (i) метионин и EDTA или (ii) метионин и DTPA. В некоторых аспектах по меньшей мере два антиоксиданта включают от около 1 до около 20 мМ метионина. В некоторых аспектах по меньшей мере два антиоксиданта включают по меньшей мере около 1 мМ, по меньшей мере около 1,5 мМ, по меньшей мере около 2 мМ, по меньшей мере около 2,5 мМ, по меньшей мере около 3 мМ, по меньшей мере около 3,5 мМ, по меньшей мере около 4 мМ, по меньшей мере около 4,5 мМ, по меньшей мере около 5 мМ, по меньшей мере около 5,5 мМ, по меньшей мере около 6 мМ, по меньшей мере около 6,5 мМ, по меньшей мере около 7 мМ, по меньшей мере около 7,5 мМ, по меньшей мере около 8 мМ, по меньшей мере около 8,5 мМ, по меньшей мере около 9 мМ, по меньшей мере около 9,5 мМ, по меньшей мере около 10 мМ, по меньшей мере около 11 мМ, по меньшей мере около 12 мМ, по меньшей мере около 13 мМ, по меньшей мере около 14 мМ, по меньшей мере около 15 мМ, по меньшей мере около 16 мМ, по меньшей мере около 17 мМ, по меньшей мере около 18 мМ, по меньшей мере около 19 мМ или по меньшей мере около 20 мМ метионина. В некоторых аспектах по меньшей мере два антиоксиданта включают около 5 мМ метионина.

[0044] В некоторых аспектах по меньшей мере два антиоксиданта включают от по меньшей мере около 10 мкМ до около 200 мкМ DTPA. В некоторых аспектах по меньшей мере два антиоксиданта включают по меньшей мере около 10 мкМ, по меньшей мере около 15 мкМ, по меньшей мере около 20 мкМ, по меньшей мере около 25 мкМ, по меньшей мере около 30 мкМ, по меньшей мере около 35 мкМ, по меньшей мере около 40 мкМ, по меньшей мере около 45 мкМ, по меньшей мере около 50 мкМ, по меньшей мере около 55 мкМ, по меньшей мере около 60 мкМ, по меньшей мере около 65 мкМ, по меньшей мере около 70 мкМ, по меньшей мере около 75 мкМ, по меньшей мере около 80 мкМ, по меньшей мере около 85 мкМ, по меньшей мере около 90 мкМ, по меньшей мере около 95 мкМ, по меньшей мере около 100 мкМ, по меньшей мере около 110 мкМ, по меньшей мере около 120 мкМ, по меньшей мере около 130 мкМ, по меньшей мере около 140 мкМ, по меньшей мере около 150 мкМ, по меньшей мере около 160 мкМ, по меньшей мере около 170 мкМ, по меньшей мере около 180 мкМ, по меньшей мере около 190 мкМ или по меньшей мере около 200 мкМ DTPA. В некоторых аспектах по меньшей мере два антиоксиданта включают около 50 мкМ DTPA.

[0045] В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает от по меньшей мере около 20 мг/мл до по меньшей мере около 200 мг/мл анти-PD-1 антитела. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает от по меньшей мере около 135 мг/мл до по меньшей мере около 180 мг/мл анти-PD-1 антитела. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает от по меньшей мере около 108 мг/мл до по меньшей мере около 132 мг/мл анти-PD-1 антитела. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает по меньшей мере около 20 мг/мл, по меньшей мере около 30 мг/мл, по меньшей мере около 40 мг/мл, по меньшей мере около 50 мг/мл, по меньшей мере около 60 мг/мл, по меньшей мере около 70 мг/мл, по меньшей мере около 80 мг/мл, по меньшей мере около 90 мг/мл, по меньшей мере около 100 мг/мл, по меньшей мере около 110 мг/мл, по меньшей мере около 120 мг/мл, по меньшей мере около 130 мг/мл, по меньшей мере около 140 мг/мл, по меньшей мере около 150 мг/мл, по меньшей мере около 160 мг/мл, по меньшей мере около 170 мг/мл, по меньшей мере около 180 мг/мл, по меньшей мере около 190 мг/мл или по меньшей мере около 200 мг/мл анти-PD-1 антитела. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает около 120 мг/мл анти-PD-1 антитела. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает около 150 мг/мл анти-PD-1 антитела.

[0046] В некоторых аспектах фармацевтическая композиция дополнительно включает модификатор тоничности и/или стабилизатор. В некоторых аспектах модификатор тоничности и/или стабилизатор включает сахар, аминокислоту, полиол, соль или их комбинацию. В некоторых аспектах модификатор тоничности и/или стабилизатор выбран из группы, состоящей из сахарозы, сорбита, трегалозы, маннита, глицерина, глицина, лейцина, изолейцина, хлорида натрия, пролина, аргинина, гистидина и любой их комбинации. В некоторых аспектах модификатор тоничности включает сахарозу. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает от по меньшей мере около 10 мМ до по меньшей мере около 500 мМ сахарозы. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает по меньшей мере около 10 мМ, по меньшей мере около 20 мМ, по меньшей мере около 30 мМ, по меньшей мере около 40 мМ, по меньшей мере около 50 мМ, по меньшей мере около 60 мМ, по меньшей мере около 70 мМ, по меньшей мере около 80 мМ, по меньшей мере около 90 мМ, по меньшей мере около 100 мМ, по меньшей мере около 110 мМ, по меньшей мере около 120 мМ, по меньшей мере около 130 мМ, по меньшей мере около 140 мМ, по меньшей мере около 150 мМ, по меньшей мере около 160 мМ, по меньшей мере

около 170 мМ, по меньшей мере около 180 мМ, по меньшей мере около 190 мМ, по меньшей мере около 200 мМ, по меньшей мере около 210 мМ, по меньшей мере около 220 мМ, по меньшей мере около 230 мМ, по меньшей мере около 240 мМ, по меньшей мере около 250 мМ, по меньшей мере около 260 мМ, по меньшей мере около 270 мМ, по меньшей мере около 280 мМ, по меньшей мере около 290 мМ, по меньшей мере около 300 мМ, по меньшей мере около 310 мМ, по меньшей мере около 320 мМ, по меньшей мере около 330 мМ, по меньшей мере около 340 мМ, по меньшей мере около 350 мМ, по меньшей мере около 360 мМ, по меньшей мере около 370 мМ, по меньшей мере около 380 мМ, по меньшей мере около 390 мМ, по меньшей мере около 400 мМ, по меньшей мере около 410 мМ, по меньшей мере около 420 мМ, по меньшей мере около 430 мМ, по меньшей мере около 440 мМ, по меньшей мере около 450 мМ, по меньшей мере около 460 мМ, по меньшей мере около 470 мМ, по меньшей мере около 480 мМ, по меньшей мере около 490 мМ или по меньшей мере около 500 мМ сахарозы. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает около 250 мМ сахарозы.

[0047] В некоторых аспектах фармацевтическая композиция дополнительно включает буферный агент. В некоторых аспектах буферный агент выбран из гистидина, сукцината, трометамина, фосфата натрия, ацетата натрия и цитрата натрия. В некоторых аспектах буферный агент включает гистидин. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает от по меньшей мере около 5 мМ до по меньшей мере около 100 мМ гистидина. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает по меньшей мере около 5 мМ, по меньшей мере около 10 мМ, по меньшей мере около 15 мМ, по меньшей мере около 20 мМ, по меньшей мере около 25 мМ, по меньшей мере около 30 мМ, по меньшей мере около 35 мМ, по меньшей мере около 40 мМ, по меньшей мере около 45 мМ, по меньшей мере около 50 мМ, по меньшей мере около 60 мМ, по меньшей мере около 70 мМ, по меньшей мере около 80 мМ, по меньшей мере около 90 мМ или по меньшей мере около 100 мМ гистидина. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает около 20 мМ гистидина.

[0048] В некоторых аспектах фармацевтическая композиция дополнительно включает поверхностно-активное вещество. В некоторых аспектах поверхностно-активное вещество выбрано из группы, состоящей из полисорбата 20, полисорбата 80 и полоксамера 188. В некоторых аспектах поверхностно-активное вещество включает полисорбат 80. Способ по любому из пп. 1-81, где фармацевтическая композиция

включает от по меньшей мере около 0,01% масс./об. до по меньшей мере около 0,1% масс./об. полисорбата 80. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает по меньшей мере около 0,01% масс./об., по меньшей мере около 0,02% масс./об., по меньшей мере около 0,03% масс./об., по меньшей мере около 0,04% масс./об., по меньшей мере около 0,05% масс./об., по меньшей мере около 0,06% масс./об., по меньшей мере около 0,07% масс./об., по меньшей мере около 0,08% масс./об., по меньшей мере около 0,09% масс./об. или по меньшей мере около 0,1% масс./об. полисорбата 80. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает около 0,05% масс./об. полисорбата 80.

[0049] В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает: (a) около 150 мг/мл анти-PD-1 антитела; (b) около 20 мМ гистидина; (c) около 250 мМ сахарозы; (d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80; (e) около 50 мкМ пентетовой кислоты; и (f) около 5 мМ метионина.

[0050] В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает: (a) около 120 мг/мл анти-PD-1 антитела; (b) около 20 мМ гистидина; (c) около 250 мМ сахарозы; (d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80; (e) около 50 мкМ пентетовой кислоты; и (f) около 5 мМ метионина.

[0051] В некоторых аспектах фармацевтическая композиция имеет pH от около 5,2 до около 6,8. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция имеет pH около 5,2, около 5,3, около 5,4, около 5,5, около 5,6, около 5,7, около 5,8, около 5,9, около 6,0, около 6,1, около 6,2, около 6,3, около 6,4, около 6,5, около 6,6, около 6,7 или около 6,8. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция имеет pH около 6,0.

[0052] Некоторые аспекты настоящего раскрытия относятся к фармацевтической композиции для применения в любом способе, раскрытом в настоящем документе.

[0053] Некоторые аспекты настоящего раскрытия относятся к фармацевтической композиции, включающей (i) антитело, которое специфически связывает PD-1 («анти-PD-1 антитело») и (ii) по меньшей мере два антиоксиданта. В некоторых аспектах по меньшей мере два антиоксиданта выбраны из метионина, триптофана, гистидина, цистеина, аскорбиновой кислоты, глицина, DTPA и EDTA. В некоторых аспектах по меньшей мере два антиоксиданта включают (i) метионин и EDTA или (ii) метионин и DTPA. В некоторых аспектах по меньшей мере два антиоксиданта включают от по меньшей мере около 1 до около 20 мМ метионина. В некоторых аспектах по меньшей мере два антиоксиданта включают по меньшей мере

около 1 мМ, по меньшей мере около 1,5 мМ, по меньшей мере около 2 мМ, по меньшей мере около 2,5 мМ, по меньшей мере около 3 мМ, по меньшей мере около 3,5 мМ, по меньшей мере около 4 мМ, по меньшей мере около 4,5 мМ, по меньшей мере около 5 мМ, по меньшей мере около 5,5 мМ, по меньшей мере около 6 мМ, по меньшей мере около 6,5 мМ, по меньшей мере около 7 мМ, по меньшей мере около 7,5 мМ, по меньшей мере около 8 мМ, по меньшей мере около 8,5 мМ, по меньшей мере около 9 мМ, по меньшей мере около 9,5 мМ, по меньшей мере около 10 мМ, по меньшей мере около 11 мМ, по меньшей мере около 12 мМ, по меньшей мере около 13 мМ, по меньшей мере около 14 мМ, по меньшей мере около 15 мМ, по меньшей мере около 16 мМ, по меньшей мере около 17 мМ, по меньшей мере около 18 мМ, по меньшей мере около 19 мМ или по меньшей мере около 20 мМ метионина. В некоторых аспектах по меньшей мере два антиоксиданта включают около 5 мМ метионина.

[0054] В некоторых аспектах по меньшей мере два антиоксиданта включают от по меньшей мере около 10 мкМ до около 200 мкМ DTPA. В некоторых аспектах по меньшей мере два антиоксиданта включают по меньшей мере около 10 мкМ, по меньшей мере около 15 мкМ, по меньшей мере около 20 мкМ, по меньшей мере около 25 мкМ, по меньшей мере около 30 мкМ, по меньшей мере около 35 мкМ, по меньшей мере около 40 мкМ, по меньшей мере около 45 мкМ, по меньшей мере около 50 мкМ, по меньшей мере около 55 мкМ, по меньшей мере около 60 мкМ, по меньшей мере около 65 мкМ, по меньшей мере около 70 мкМ, по меньшей мере около 75 мкМ, по меньшей мере около 80 мкМ, по меньшей мере около 85 мкМ, по меньшей мере около 90 мкМ, по меньшей мере около 95 мкМ, по меньшей мере около 100 мкМ, по меньшей мере около 110 мкМ, по меньшей мере около 120 мкМ, по меньшей мере около 130 мкМ, по меньшей мере около 140 мкМ, по меньшей мере около 150 мкМ, по меньшей мере около 160 мкМ, по меньшей мере около 170 мкМ, по меньшей мере около 180 мкМ, по меньшей мере около 190 мкМ или по меньшей мере около 200 мкМ DTPA. В некоторых аспектах по меньшей мере два антиоксиданта включают около 50 мкМ DTPA.

[0055] В некоторых аспектах композиция включает от по меньшей мере около 20 мг/мл до по меньшей мере около 200 мг/мл анти-PD-1 антитела. В некоторых аспектах композиция включает от по меньшей мере около 135 мг/мл до по меньшей мере около 180 мг/мл анти-PD-1 антитела. В некоторых аспектах композиция включает от по меньшей мере около 108 мг/мл до по меньшей мере около 132 мг/мл анти-PD-1 антитела. В некоторых аспектах композиция включает по меньшей мере

около 20 мг/мл, по меньшей мере около 30 мг/мл, по меньшей мере около 40 мг/мл, по меньшей мере около 50 мг/мл, по меньшей мере около 60 мг/мл, по меньшей мере около 70 мг/мл, по меньшей мере около 80 мг/мл, по меньшей мере около 90 мг/мл, по меньшей мере около 100 мг/мл, по меньшей мере около 110 мг/мл, по меньшей мере около 120 мг/мл, по меньшей мере около 130 мг/мл, по меньшей мере около 140 мг/мл, по меньшей мере около 150 мг/мл, по меньшей мере около 160 мг/мл, по меньшей мере около 170 мг/мл, по меньшей мере около 180 мг/мл, по меньшей мере около 190 мг/мл или по меньшей мере около 200 мг/мл анти-PD-1 антитела. В некоторых аспектах композиция включает около 120 мг/мл анти-PD-1 антитела. В некоторых аспектах композиция включает около 150 мг/мл анти-PD-1 антитела.

[0056] В некоторых аспектах композиция дополнительно включает модификатор тоничности и/или стабилизатор. В некоторых аспектах модификатор тоничности и/или стабилизатор включает сахар, аминокислоту, полиол, соль или их комбинацию. В некоторых аспектах модификатор тоничности и/или стабилизатор выбран из группы, состоящей из сахарозы, сорбита, трегалозы, маннита, глицерина, глицина, лейцина, изолейцина, хлорида натрия, пролина, аргинина, гистидина и любой их комбинации. В некоторых аспектах модификатор тоничности включает сахарозу. В некоторых аспектах композиция включает от по меньшей мере около 10 мМ до по меньшей мере около 500 мМ сахарозы. В некоторых аспектах композиция включает по меньшей мере около 10 мМ, по меньшей мере около 20 мМ, по меньшей мере около 30 мМ, по меньшей мере около 40 мМ, по меньшей мере около 50 мМ, по меньшей мере около 60 мМ, по меньшей мере около 70 мМ, по меньшей мере около 80 мМ, по меньшей мере около 90 мМ, по меньшей мере около 100 мМ, по меньшей мере около 110 мМ, по меньшей мере около 120 мМ, по меньшей мере около 130 мМ, по меньшей мере около 140 мМ, по меньшей мере около 150 мМ, по меньшей мере около 160 мМ, по меньшей мере около 170 мМ, по меньшей мере около 180 мМ, по меньшей мере около 190 мМ, по меньшей мере около 200 мМ, по меньшей мере около 210 мМ, по меньшей мере около 220 мМ, по меньшей мере около 230 мМ, по меньшей мере около 240 мМ, по меньшей мере около 250 мМ, по меньшей мере около 260 мМ, по меньшей мере около 270 мМ, по меньшей мере около 280 мМ, по меньшей мере около 290 мМ, по меньшей мере около 300 мМ, по меньшей мере около 310 мМ, по меньшей мере около 320 мМ, по меньшей мере около 330 мМ, по меньшей мере около 340 мМ, по меньшей мере около 350 мМ, по меньшей мере около 360 мМ, по меньшей мере около 370 мМ, по меньшей мере около 380 мМ, по меньшей мере около 390 мМ, по меньшей

мере около 400 мМ, по меньшей мере около 410 мМ, по меньшей мере около 420 мМ, по меньшей мере около 430 мМ, по меньшей мере около 440 мМ, по меньшей мере около 450 мМ, по меньшей мере около 460 мМ, по меньшей мере около 470 мМ, по меньшей мере около 480 мМ, по меньшей мере около 490 мМ или по меньшей мере около 500 мМ сахарозы. В некоторых аспектах композиция включает около 250 мМ сахарозы.

[0057] В некоторых аспектах композиция дополнительно включает буферный агент. В некоторых аспектах буферный агент выбран из гистидина, сукцината, трометамина, фосфата натрия, ацетата натрия и цитрата натрия. В некоторых аспектах буферный агент включает гистидин. В некоторых аспектах композиция включает от по меньшей мере около 5 мМ до по меньшей мере около 100 мМ гистидина. В некоторых аспектах композиция включает по меньшей мере около 5 мМ, по меньшей мере около 10 мМ, по меньшей мере около 15 мМ, по меньшей мере около 20 мМ, по меньшей мере около 25 мМ, по меньшей мере около 30 мМ, по меньшей мере около 35 мМ, по меньшей мере около 40 мМ, по меньшей мере около 45 мМ, по меньшей мере около 50 мМ, по меньшей мере около 60 мМ, по меньшей мере около 70 мМ, по меньшей мере около 80 мМ, по меньшей мере около 90 мМ или по меньшей мере около 100 мМ гистидина. В некоторых аспектах композиция включает около 20 мМ гистидина.

[0058] В некоторых аспектах композиция дополнительно включает поверхностно-активное вещество. В некоторых аспектах поверхностно-активное вещество выбрано из группы, состоящей из полисорбата 20, полисорбата 80 и полоксамера 188. В некоторых аспектах поверхностно-активное вещество включает полисорбат 80. В некоторых аспектах композиция включает от по меньшей мере около 0,01% масс./об. до по меньшей мере около 0,1% масс./об. полисорбата 80. В некоторых аспектах композиция включает по меньшей мере около 0,01% масс./об., по меньшей мере около 0,02% масс./об., по меньшей мере около 0,03% масс./об., по меньшей мере около 0,04% масс./об., по меньшей мере около 0,05% масс./об., по меньшей мере около 0,06% масс./об., по меньшей мере около 0,07% масс./об., по меньшей мере около 0,08% масс./об., по меньшей мере около 0,09% масс./об. или по меньшей мере около 0,1% масс./об. полисорбата 80. В некоторых аспектах композиция включает около 0,05% масс./об. полисорбата 80.

[0059] В некоторых аспектах композиция включает: (a) около 150 мг/мл анти-PD-1 антитела; (b) около 20 мМ гистидина; (c) около 250 мМ сахарозы; (d) около 0,05%

масс./об. полисорбата 80; (e) около 50 мкМ пентетовой кислоты; и (f) около 5 мМ метионина.

[0060] В некоторых аспектах композиция включает: (a) около 120 мг/мл анти-PD-1 антитела; (b) около 20 мМ гистидина; (c) около 250 мМ сахарозы; (d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80; (e) около 50 мкМ пентетовой кислоты; и (f) около 5 мМ метионина.

[0061] В некоторых аспектах композиция имеет pH от около 5,2 до около 6,8. В некоторых аспектах композиция имеет pH около 5,2, около 5,3, около 5,4, около 5,5, около 5,6, около 5,7, около 5,8, около 5,9, около 6,0, около 6,1, около 6,2, около 6,3, около 6,4, около 6,5, около 6,6, около 6,7 или около 6,8. В некоторых аспектах композиция имеет pH около 6,0.

[0062] В некоторых аспектах фармацевтическая композиция дополнительно включает второе терапевтическое средство. В некоторых аспектах второе терапевтическое средство представляет собой антитело. В некоторых аспектах второе терапевтическое средство представляет собой ингибитор контрольной точки. В некоторых аспектах ингибитор контрольной точки представляет собой антитело анти-CTLA-4, антитело анти-LAG-3, антитело анти-TIM3, антитело анти-TIGIT, антитело анти-TIM3, антитело анти-NKG2a, антитело анти-OX40, антитело анти-ICOS, антитело анти-MICA, антитело анти-CD137, анти-KIR антитело, анти-TGFβ антитело, анти-IL-10 антитело, анти-IL-8 антитело, анти-B7-H4 антитело, анти-Fas-лиганд антитело, анти-CXCR4 антитело, анти-мезотелин антитело, анти-CD27 антитело, анти-GITR или любую их комбинацию. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция дополнительно включает третье терапевтическое средство. В некоторых аспектах второе терапевтическое средство, третье терапевтическое средство или оба включают IL-2 (например, бемпегалдеслейкин) или IL12-Fc (например, BMS-986415).

[0063] Некоторые аспекты настоящего раскрытия относятся к флакону, содержащему фармацевтическую композицию, раскрытую в настоящем документе.

[0064] Некоторые аспекты настоящего раскрытия относятся к единичной дозе, включающей любую фармацевтическую композицию, раскрытую в настоящем документе.

[0065] Некоторые аспекты настоящего раскрытия относятся к единичной дозе, включающей: (a) около 150 мг/мл анти-PD-1 антитела; (b) около 20 мМ гистидина; (c) около 250 мМ сахарозы; (d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80; (e) около 50 мкМ пентетовой кислоты; и (f) около 5 мМ метионина.

[0066] В некоторых аспектах флакон представляет собой автоинжектор. Некоторые аспекты настоящего раскрытия относятся к автоинжектору, содержащему единичную дозу, раскрытую в настоящем документе. В некоторых аспектах флакон представляет собой носимое устройство. Некоторые аспекты настоящего раскрытия относятся к носимому устройству, содержащему единичную дозу, раскрытую в настоящем документе.

Аспекты

[0067] Фармацевтические композиции и их применения.

[0068] Аспект A1. Фармацевтическая композиция, включающая (i) антитело, специфически связывающее PD-1 («анти-PD-1 антитело»), (ii) гидролазный фермент эндогликозидазу и (iii) по меньшей мере два антиоксиданта.

[0069] Аспект A2. Фармацевтическая композиция по аспекту A1, в которой по меньшей мере один из по меньшей мере двух антиоксидантов является «жертвуемым» антиоксидантом.

[0070] Аспект A3. Фармацевтическая композиция по аспекту A2, где «жертвуемый» антиоксидант выбран из группы, состоящей из метионина, триптофана и гистидина, цистеина, аскорбиновой кислоты, глицина или других «жертвуемых» средств.

[0071] Аспект A4. Фармацевтическая композиция по любому из аспектов A1-A3, в которой по меньшей мере один из по меньшей мере двух антиоксидантов включает хелатор ионов металлов.

[0072] Аспект A5. Фармацевтическая композиция по аспекту A4, где хелатор ионов металла выбран из пентетовой кислоты («DTPA») и EDTA.

[0073] Аспект A6. Фармацевтическая композиция по любому из аспектов A1-A5, где по меньшей мере два антиоксиданта выбраны из группы, состоящей из метионина, DTPA и EDTA.

[0074] Аспект A7. Фармацевтическая композиция по любому из аспектов A1-A6, где один из по меньшей мере двух антиоксидантов представляет собой метионин.

[0075] Аспект A8. Фармацевтическая композиция по любому из аспектов A1-A7, где один из по меньшей мере двух антиоксидантов представляет собой DTPA.

[0076] Аспект A9. Фармацевтическая композиция по любому из аспектов A1-A7, где один из по меньшей мере двух антиоксидантов представляет собой EDTA.

[0077] Аспект A10. Фармацевтическая композиция по любому из аспектов A1-A8, где по меньшей мере два антиоксиданта представляют собой метионин и DTPA.

[0078] Аспект A11. Фармацевтическая композиция по любому из аспектов A1-A7 и A9, где по меньшей мере два антиоксиданта представляют собой метионин и EDTA.

[0079] Аспект A12. Фармацевтическая композиция по любому из аспектов A1-A11, где по меньшей мере один антиоксидант содержит по меньшей мере от около 1 до около 20 мМ метионина.

[0080] Аспект A13. Фармацевтическая композиция по любому из аспектов A1-A12, где по меньшей мере один антиоксидант содержит по меньшей мере около 1 мМ, по меньшей мере около 1,5 мМ, по меньшей мере около 2 мМ, по меньшей мере около 2,5 мМ, по меньшей мере около 3 мМ, по меньшей мере около 3,5 мМ, по меньшей мере около 4 мМ, по меньшей мере около 4,5 мМ, по меньшей мере около 5 мМ, по меньшей мере около 5,5 мМ, по меньшей мере около 6 мМ, по меньшей мере около 6,5 мМ, по меньшей мере около 7 мМ, по меньшей мере около 7,5 мМ, по меньшей мере около 8 мМ, по меньшей мере около 8,5 мМ, по меньшей мере около 9 мМ, по меньшей мере около 9,5 мМ, по меньшей мере около 10 мМ, по меньшей мере около 11 мМ, по меньшей мере около 12 мМ, по меньшей мере около 13 мМ, по меньшей мере около 14 мМ, по меньшей мере около 15 мМ, по меньшей мере около 16 мМ, по меньшей мере около 17 мМ, по меньшей мере около 18 мМ, по меньшей мере около 19 мМ или по меньшей мере около 20 мМ метионина.

[0081] Аспект A14. Фармацевтическая композиция по любому из аспектов A1-A13, где по меньшей мере один антиоксидант содержит около 5 мМ метионина.

[0082] Аспект A15. Фармацевтическая композиция по любому из аспектов A1-A14, где по меньшей мере один антиоксидант содержит по меньшей мере от около 10 мкМ до около 200 мкМ DTPA.

[0083] Аспект A16. Фармацевтическая композиция по любому из аспектов A1-A15, где по меньшей мере один антиоксидант содержит по меньшей мере около 10 мкМ, по меньшей мере около 15 мкМ, по меньшей мере около 20 мкМ, по меньшей мере около 25 мкМ, по меньшей мере около 30 мкМ, по меньшей мере около 35 мкМ, по меньшей мере около 40 мкМ, по меньшей мере около 45 мкМ, по меньшей мере около 50 мкМ, по меньшей мере около 55 мкМ, по меньшей мере около 60 мкМ, по меньшей мере около 65 мкМ, по меньшей мере около 70 мкМ, по меньшей мере около 75 мкМ, по меньшей мере около 80 мкМ, по меньшей мере около 85 мкМ, по меньшей мере около 90 мкМ, по меньшей мере около 95 мкМ, по меньшей мере около 100 мкМ, по меньшей мере около 110 мкМ, по меньшей мере около 120 мкМ, по меньшей мере

около 130 мкМ, по меньшей мере около 140 мкМ, по меньшей мере около 150 мкМ, по меньшей мере около 160 мкМ, по меньшей мере около 170 мкМ, по меньшей мере около 180 мкМ, по меньшей мере около 190 мкМ или по меньшей мере около 200 мкМ DTPA.

[0084] Аспект A17. Фармацевтическая композиция по любому из аспектов A1-A16, где по меньшей мере один антиоксидант содержит около 50 мкМ DTPA.

[0085] Аспект A18. Фармацевтическая композиция по любому из аспектов A1-17, включающая от по меньшей мере около 20 мг/мл до по меньшей мере около 200 мг/мл анти-PD-1 антитела.

[0086] Аспект A19. Фармацевтическая композиция по любому из аспектов A1-A18, включающая от по меньшей мере около 135 мг/мл до по меньшей мере около 180 мг/мл анти-PD-1 антитела.

[0087] Аспект A20. Фармацевтическая композиция по любому из аспектов A1-A17, включающая от по меньшей мере около 108 мг/мл до по меньшей мере около 132 мг/мл анти-PD-1 антитела.

[0088] Аспект A21. Фармацевтическая композиция по любому из аспектов A1-A20, включающая по меньшей мере около 20 мг/мл, по меньшей мере около 30 мг/мл, по меньшей мере около 40 мг/мл, по меньшей мере около 50 мг/мл, по меньшей мере около 60 мг/мл, по меньшей мере около 70 мг/мл, по меньшей мере около 80 мг/мл, по меньшей мере около 90 мг/мл, по меньшей мере около 100 мг/мл, по меньшей мере около 110 мг/мл, по меньшей мере около 120 мг/мл, по меньшей мере около 130 мг/мл, по меньшей мере около 140 мг/мл, по меньшей мере около 150 мг/мл, по меньшей мере около 160 мг/мл, по меньшей мере около 170 мг/мл, по меньшей мере около 180 мг/мл, по меньшей мере около 190 мг/мл или по меньшей мере около 200 мг/мл анти-PD-1 антитела.

[0089] Аспект A22. Фармацевтическая композиция по любому из аспектов A1-21, включающая около 120 мг/мл анти-PD-1 антитела.

[0090] Аспект A23. Фармацевтическая композиция по любому из аспектов A1-21, включающая около 150 мг/мл анти-PD-1 антитела.

[0091] Аспект A24. Фармацевтическая композиция по любому из аспектов A1-23, включающая от по меньшей мере около 5 ЕД до по меньшей мере около 100000 ЕД гидролазного фермента эндогликозидазы.

[0092] Аспект A25. Фармацевтическая композиция по любому из аспектов A1-24, включающая по меньшей мере около 5 ЕД, по меньшей мере около 10 ЕД, по

меньшей мере около 20 ЕД, по меньшей мере около 30 ЕД, по меньшей мере около 40 ЕД, по меньшей мере около 50 ЕД, по меньшей мере около 75 ЕД, по меньшей мере около 100 ЕД, по меньшей мере около 200 ЕД, по меньшей мере около 300 ЕД, по меньшей мере около 400 ЕД, по меньшей мере около 500 ЕД, по меньшей около 750 ЕД, по меньшей около 1000 ЕД, по меньшей около 2000 ЕД, по меньшей около 3000 ЕД, по меньшей мере около 4000 ЕД, по меньшей мере около 5000 ЕД, по меньшей мере около 6000 ЕД, по меньшей мере около 7000 ЕД, по меньшей мере около 8000 ЕД, по меньшей мере около 9000 ЕД, по меньшей мере около 10000 ЕД, по меньшей мере около 20000 ЕД, по меньшей мере около 30000 ЕД, по меньшей мере около 40000 ЕД, по меньшей мере около 50000 ЕД, по меньшей мере около 60000 ЕД, по меньшей мере около 70000 ЕД, по меньшей мере около 80000 ЕД, по меньшей мере около 90000 ЕД или по меньшей мере около 100000 ЕД гидролазного фермента эндогликозидазы.

[0093] Аспект А26. Фармацевтическая композиция по любому из аспектов А1-А25, включающая около 20000 ЕД гидролазного фермента эндогликозидазы.

[0094] Аспект А27. Фармацевтическая композиция по любому из аспектов А1-26, включающая от по меньшей мере около 500 Ед/мл до по меньшей мере около 5000 Ед/мл гидролазного фермента эндогликозидазы.

[0095] Аспект А28. Фармацевтическая композиция по любому из аспектов А1-27, включающая по меньшей мере около 1500 Ед/мл, по меньшей мере около 1600 Ед/мл, по меньшей мере около 1700 Ед/мл, по меньшей мере около 1800 Ед/мл, по меньшей мере около 1900 Ед/мл, по меньшей мере около 2000 Ед/мл, по меньшей мере около 2100 Ед/мл, по меньшей мере около 2200 Ед/мл, по меньшей мере около 2300 Ед/мл, по меньшей мере около 2400 мкМ, по меньшей мере около 2500 Ед/мл, по меньшей мере около 3000 Ед/мл, по меньшей мере около 3500 Ед/мл, по меньшей мере около 4000 Ед/мл, по меньшей мере около 4500 Ед/мл или по меньшей мере около 5000 Ед/мл гидролазного фермента эндогликозидазы.

[0096] Аспект А29. Фармацевтическая композиция по любому из аспектов А1-А28, включающая около 2000 Ед/мл гидролазного фермента эндогликозидазы.

[0097] Аспект А30. Фармацевтическая композиция по любому из аспектов А1-А29, где гидролазный фермент эндогликозидаза расщепляет гиалуроновую кислоту по гексозаминидной β (1-4) или (1-3) связи.

[0098] Аспект А31. Фармацевтическая композиция по любому из аспектов А1-А30, где гидролазный фермент эндогликозидаза включает каталитический домен гиалуронидазы PH-20 (HuPH20), HYAL1, HYAL2, HYAL3, HYAL4 или HYALPS1.

[0099] Аспект A32. Фармацевтическая композиция по любому из аспектов A1-A31, где гидролазный фермент эндогликозидаза включает аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере около 70%, по меньшей мере около 75%, по меньшей мере около 80%, по меньшей мере около 85%, по меньшей мере около 90%, по меньшей мере около 95%, по меньшей мере около 96%, по меньшей мере около 97%, по меньшей мере около 98%, по меньшей мере около 99% или около 100% идентичности последовательности с аминокислотами 36-490 из SEQ ID NO: 1.

[0100] Аспект A33. Фармацевтическая композиция по любому из аспектов A1-A32, где гидролазный фермент эндогликозидаза включает гиалуронидазу.

[0101] Аспект A34. Фармацевтическая композиция по любому из аспектов A1-A33, где гидролазный фермент эндогликозидаза включает гиалуронидазу, выбранную из группы, состоящей из HuPH20, HYAL1, HYAL2, HYAL3, HYAL4, любого их варианта и любой их изоформы.

[0102] Аспект A35. Фармацевтическая композиция по любому из аспектов A1-A34, где гидролазный фермент эндогликозидаза включает rHuPH20 или его фрагмент.

[0103] Аспект A36. Фармацевтическая композиция по любому из аспектов A1-A35, где гидролазный фермент эндогликозидаза включает модифицированную гиалуронидазу, содержащую одну или более аминокислотных замен по отношению к гиалуронидазе дикого типа, выбранной из группы, состоящей из HuPH20, HYAL1, HYAL2, HYAL3, HYAL4, HYALPS1 или их фрагмента.

[0104] Аспект A37. Фармацевтическая композиция по любому из аспектов A1-A36, где гидролазный фермент эндогликозидаза включает модифицированную гиалуронидазу, состоящую из одной или более аминокислотных замен в области альфа-спирали относительно гиалуронидазы дикого типа, выбранной из группы, состоящей из HuPH20, HYAL1, HYAL2, HYAL3, HYAL4, HYALPS1 или их фрагмента.

[0105] Аспект A38. Фармацевтическая композиция по любому из аспектов A1-A37, где гидролазный фермент эндогликозидаза включает модифицированную гиалуронидазу, включающую одну или более аминокислотных замен в линкерной области относительно гиалуронидазы дикого типа, выбранной из группы, состоящей из HuPH20, HYAL1, HYAL2, HYAL3, HYAL4, HYALPS1 или их фрагмента.

[0106] Аспект A39. Фармацевтическая композиция по любому из аспектов A1-A38, где гидролазный фермент эндогликозидаза включает модифицированную гиалуронидазу, в которой одна или более N-концевых и/или C-концевых аминокислот

удалены относительно гиалуронидазы дикого типа, выбранной из группы, состоящей из HuPH20, HYAL1, HYAL2, HYAL3, HYAL4, HYALPS1 или их фрагмента.

[0107] Аспект A40. Фармацевтическая композиция по любому из аспектов A1-A39, где гидролазный фермент эндогликозидаза включает модифицированный rHuPH20, причем модифицированный rHuPH20 включает: i.одну или несколько аминокислотных замен в альфа-спиральной области, линкерной области или как в альфа-спиральной области, так и в линкерной области относительно rHuPH20 дикого типа; ii.делецию одной или более N-концевой аминокислоты, одной или более C-концевой аминокислоты или одной или более N-концевой аминокислоты и одной или более C-концевой аминокислоты относительно rHuPH20 дикого типа; или iii. как и (i), так и (ii).

[0108] Аспект A41. Фармацевтическая композиция по любому из аспектов A1-A40, дополнительно включающая модификатор тоничности и/или стабилизатор.

[0109] Аспект A42. Фармацевтическая композиция по аспекту A41, где модификатор тоничности и/или стабилизатор включает сахар, аминокислоту, полиол, соль или их комбинацию.

[0110] Аспект A43. Фармацевтическая композиция по аспекту A41 или 42, где модификатор тоничности и/или стабилизатор включает сахарозу, сорбит, трегалозу, маннит, глицерин, глицин, лейцин, изолейцин, хлорид натрия, пролин, аргинин, гистидин или любую их комбинацию.

[0111] Аспект A44. Фармацевтическая композиция по любому из аспектов A41-A43, где модификатор тоничности включает сахарозу.

[0112] Аспект A45. Фармацевтическая композиция по любому из аспектов A1-A44, включающая от по меньшей мере около 10 мМ до по меньшей мере около 500 мМ сахарозы.

[0113] Аспект A46. Фармацевтическая композиция по любому из аспектов A1-A45, включающая по меньшей мере около 10 мМ, по меньшей мере около 20 мМ, по меньшей мере около 30 мМ, по меньшей мере около 40 мМ, по меньшей мере около 50 мМ, по меньшей мере около 60 мМ, по меньшей мере около 70 мМ, по меньшей мере около 80 мМ, по меньшей мере около 90 мМ, по меньшей мере около 100 мМ, по меньшей мере около 110 мМ, по меньшей мере около 120 мМ, по меньшей мере около 130 мМ, по меньшей мере около 140 мМ, по меньшей мере около 150 мМ, по меньшей мере около 160 мМ, по меньшей мере около 170 мМ, по меньшей мере около 180 мМ, по меньшей мере около 190 мМ, по меньшей мере около 200 мМ, по меньшей мере

около 210 мМ, по меньшей мере около 220 мМ, по меньшей мере около 230 мМ, по меньшей мере около 240 мМ, по меньшей мере около 250 мМ, по меньшей мере около 260 мМ, по меньшей мере около 270 мМ, по меньшей мере около 280 мМ, по меньшей мере около 290 мМ, по меньшей мере около 300 мМ, по меньшей мере около 310 мМ, по меньшей мере около 320 мМ, по меньшей мере около 330 мМ, по меньшей мере около 340 мМ, по меньшей мере около 350 мМ, по меньшей мере около 360 мМ, по меньшей мере около 370 мМ, по меньшей мере около 380 мМ, по меньшей мере около 390 мМ, по меньшей мере около 400 мМ, по меньшей мере около 410 мМ, по меньшей мере около 420 мМ, по меньшей мере около 430 мМ, по меньшей мере около 440 мМ, по меньшей мере около 450 мМ, по меньшей мере около 460 мМ, по меньшей мере около 470 мМ, по меньшей мере около 480 мМ, по меньшей мере около 490 мМ или по меньшей мере около 500 мМ сахарозы.

[0114] Аспект А47. Фармацевтическая композиция по любому из аспектов А1-А46, включающая около 250 мМ сахарозы.

[0115] Аспект А48. Фармацевтическая композиция по любому из аспектов А1-А47, дополнительно включающая буферный агент.

[0116] Аспект А49. Фармацевтическая композиция по аспекту А48, где буферный агент выбран из гистидина, сукцината, трометамина, фосфата натрия, ацетата натрия и цитрата натрия.

[0117] Аспект А50. Фармацевтическая композиция по аспекту А48 или 49, где буферный агент включает гистидин.

[0118] Аспект А51. Фармацевтическая композиция по любому из аспектов А1-А50, включающая от по меньшей мере около 5 мМ до по меньшей мере около 100 мМ гистидина.

[0119] Аспект А52. Фармацевтическая композиция по любому из аспектов А1-А51, включающая по меньшей мере около 5 мМ, по меньшей мере около 10 мМ, по меньшей мере около 15 мМ, по меньшей мере около 20 мМ, по меньшей мере около 25 мМ, по меньшей мере около 30 мМ, по меньшей мере около 35 мМ, по меньшей мере около 40 мМ, по меньшей мере около 45 мМ, по меньшей мере около 50 мМ, по меньшей мере около 60 мМ, по меньшей мере около 70 мМ, по меньшей мере около 80 мМ, по меньшей мере около 90 мМ или по меньшей мере около 100 мМ гистидина.

[0120] Аспект А53. Фармацевтическая композиция по любому из аспектов А1-А52, включающая около 20 мМ гистидина.

[0121] Аспект А54. Фармацевтическая композиция по любому из аспектов А1-

A53, дополнительно включающая поверхностно-активное вещество.

[0122] Аспект A55. Фармацевтическая композиция по аспекту A54, где поверхностно-активное вещество выбрано из группы, состоящей из полисорбата 20, полисорбата 80 и полоксамера 188.

[0123] Аспект A56. Фармацевтическая композиция по аспекту A54 или A55, где поверхностно-активное вещество включает полисорбат 80.

[0124] Аспект A57. Фармацевтическая композиция по любому из аспектов A1-A56, включающая от по меньшей мере около 0,01% масс./об. до по меньшей мере около 0,1% масс./об. полисорбата 80.

[0125] Аспект A58. Фармацевтическая композиция по любому из аспектов A1-A57, включающая по меньшей мере около 0,01% масс./об., по меньшей мере около 0,02% масс./об., по меньшей мере около 0,03% масс./об., по меньшей мере около 0,04% масс./об., по меньшей мере около 0,05% масс./об., по меньшей мере около 0,06% масс./об., по меньшей мере около 0,07% масс./об., по меньшей мере около 0,08% масс./об., по меньшей мере около 0,09% масс./об. или по меньшей мере около 0,1% масс./об. полисорбата 80.

0126] Аспект A59. Фармацевтическая композиция по любому из аспектов A1-A58, включающая около 0,05% масс./об. полисорбата 80.

[0127] Аспект A60. Фармацевтическая композиция по любому из аспектов A1-A35 и A41-A59, включающая: (a) около 120 мг/мл анти-PD-1 антитела; (b) около 20 мМ гистидина; (c) около 250 мМ сахарозы; (d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80; (e) около 50 мкМ пентетовой кислоты; (f) около 5 мМ метионина; и (g) около 0,0182 мг/мл rHuPH20.

[0128] Аспект A61. Фармацевтическая композиция по любому из аспектов A1-A35 и A41-A59, включающая: (a) около 120 мг/мл анти-PD-1 антитела; (b) около 20 мМ гистидина; (c) около 250 мМ сахарозы; (d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80; (e) около 50 мкМ пентетовой кислоты; (f) около 5 мМ метионина; и (g) около 2000 Ед/мл rHuPH20.

[0129] Аспект A62. Фармацевтическая композиция по любому из аспектов A1-A35 и A41-A59, включающая: (a) около 150 мг/мл анти-PD-1 антитела; (b) около 20 мМ гистидина; (c) около 250 мМ сахарозы; (d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80; (e) около 50 мкМ пентетовой кислоты; (f) около 5 мМ метионина; и (g) около 0,0182 мг/мл rHuPH20.

[0130] Аспект A63. Фармацевтическая композиция по любому из аспектов A1-

A35 и A41-A59, включающая: (a) около 150 мг/мл анти-PD-1 антитела; (b) около 20 мМ гистидина; (c) около 250 мМ сахарозы; (d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80; (e) около 50 мкМ пентетовой кислоты; (f) около 5 мМ метионина; и (g) около 2000 Ед/мл rHuPH20.

[0131] Аспект A64. Фармацевтическая композиция по любому из аспектов A1-A63, где анти-PD-1 антитело выбрано из ниволумаба, пембролизумаба, PDR001, MEDI-0680, цемиплимаба, торипалимаба, тислизумаба, INCSHR1210, TSR-042, GLS-010, AM-0001, STI-1110, AGEN2034, MGA012, BCD-100, IBI308, сасанлимаба и любой их комбинации.

[0132] Аспект A65. Фармацевтическая композиция по любому из аспектов A1-A64, где анти-PD-1 антитело представляет собой ниволумаб.

[0133] Аспект A66. Фармацевтическая композиция по любому из аспектов A1-A64, где анти-PD-1 антитело представляет собой пембролизумаб.

[0134] Аспект A67. Фармацевтическая композиция по любому из аспектов A1-A35 и A41-A65, включающая: (a) около 120 мг/мл ниволумаба; (b) около 20 мМ гистидина; (c) около 250 мМ сахарозы; (d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80; (e) около 50 мкМ пентетовой кислоты; (f) около 5 мМ метионина; и (g) около 0,0182 мг/мл rHuPH20.

[0135] Аспект A68. Фармацевтическая композиция по любому из аспектов A1-A35 и A41-A65, включающая: (a) около 120 мг/мл ниволумаба; (b) около 20 мМ гистидина; (c) около 250 мМ сахарозы; (d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80; (e) около 50 мкМ пентетовой кислоты; (f) около 5 мМ метионина; и (g) около 2000 Ед/мл rHuPH20.

[0136] Аспект A69. Фармацевтическая композиция по любому из аспектов A1-A35 и A41-A65, включающая: (a) около 150 мг/мл ниволумаба; (b) около 20 мМ гистидина; (c) около 250 мМ сахарозы; (d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80; (e) около 50 мкМ пентетовой кислоты; (f) около 5 мМ метионина; и (g) около 0,0182 мг/мл rHuPH20.

[0137] Аспект A70. Фармацевтическая композиция по любому из аспектов A1-A35 и A41-A65, включающая: (a) около 150 мг/мл ниволумаба; (b) около 20 мМ гистидина; (c) около 250 мМ сахарозы; (d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80; (e) около 50 мкМ пентетовой кислоты; (f) около 5 мМ метионина; и (g) около 2000 Ед/мл rHuPH20.

[0138] Аспект A71. Фармацевтическая композиция по любому из аспектов A1-

35 и 41-65, включающая: (a) около 672 мг ниволумаба; (b) около 8,68 мг гистидина; (c) около 11,8 мг гистидина HCl H2O; (d) около 479 мг сахарозы; (e) около 2,80 мг полисорбата 80; (f) около 0,110 мг пентетовой кислоты; (g) около 4,18 мг метионина; (h) около 0,102 мг rHuPH20; где (a)-(h) восстанавливаются в воде до конечного объема по меньшей мере около 5,6 мл.

[0139] Аспект A72. Фармацевтическая композиция по любому из аспектов A1-A71, включающая pH от около 5,2 до около 6,8.

[0140] Аспект A73. Фармацевтическая композиция по любому из аспектов A1-A72, включающая pH около 5,2, около 5,2, около 5,3, около 5,4, около 5,5, около 5,6, около 5,7, около 5,8, около 5,9, около 6,0, около 6,1, около 6,2, около 6,3, около 6,4, около 6,5, около 6,6, около 6,7 или около 6,8.

[0141] Аспект A74. Фармацевтическая композиция по любому из аспектов A1-A73, включающая pH около 6,0.

[0142] Аспект A75. Фармацевтическая композиция по любому из аспектов A1-74, дополнительно включающая второе терапевтическое средство.

[0143] Аспект A76. Фармацевтическая композиция по аспекту A75, где второе терапевтическое средство представляет собой антитело.

[0144] Аспект A77. Фармацевтическая композиция по аспекту A76, где второе терапевтическое средство представляет собой ингибитор контрольной точки.

[0145] Аспект A78. Фармацевтическая композиция по аспекту A77, где ингибитор контрольной точки представляет собой антитело анти-CTLA-4, антитело анти-LAG-3, антитело анти-TIM3, антитело анти-TIGIT, антитело анти-NKG2a, антитело анти-OX40, антитело анти-ICOS, антитело анти-MICA, анти-CD137 антитело, анти-KIR антитело, анти-TGFβ антитело, анти-IL-10 антитело, анти-IL-8 антитело, анти-B7-H4 антитело, анти-Fas-лиганд антитело, анти-CXCR4 антитело, анти-мезотелин антитело, анти-CD27 антитело, анти-GITR или любую их комбинацию.

[0146] Аспект A79. Фармацевтическая композиция по любому из аспектов A1-A35 и A41-A78, включающая: (a) около 120 мг/мл ниволумаба; (b) около 20 мМ гистидина; (c) около 250 мМ сахарозы; (d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80; (e) около 50 мкМ пентетовой кислоты; (f) около 5 мМ метионина; (g) около 2000 Ед/мл rHuPH20; и (h) анти-CTLA-4 антитело.

[0147] Аспект A80. Фармацевтическая композиция по любому из аспектов A1-A35 и A41-A78, включающая: (a) около 150 мг/мл ниволумаба; (b) около 20 мМ

гистидина; (c) около 250 мМ сахарозы; (d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80; (e) около 50 мкМ пентетовой кислоты; (f) около 5 мМ метионина; (g) около 2000 Ед/мл rHuPH20; и (h) анти-CTLA-4 антитело.

[0148] Аспект A81. Фармацевтическая композиция по любому из аспектов A1-A35 и A41-A78, включающая: (a) около 120 мг/мл ниволумаба; (b) около 20 мМ гистидина; (c) около 250 мМ сахарозы; (d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80; (e) около 50 мкМ пентетовой кислоты; (f) около 5 мМ метионина; (g) около 2000 Ед/мл rHuPH20; и (h) анти-LAG-3 антитело.

[0149] Аспект A82. Фармацевтическая композиция по любому из аспектов A1-A35 и A41-A78, включающая: (a) около 150 мг/мл ниволумаба; (b) около 20 мМ гистидина; (c) около 250 мМ сахарозы; (d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80; (e) около 50 мкМ пентетовой кислоты; (f) около 5 мМ метионина; (g) около 2000 Ед/мл rHuPH20; и (h) анти-LAG-3 антитело.

[0150] Аспект A83. Фармацевтическая композиция по любому из аспектов A1-A35 и A41-A78, включающая: (a) около 120 мг/мл ниволумаба; (b) около 20 мМ гистидина; (c) около 250 мМ сахарозы; (d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80; (e) около 50 мкМ пентетовой кислоты; (f) около 5 мМ метионина; (g) около 2000 Ед/мл rHuPH20; и (h) анти-TIM3 антитело.

[0151] Аспект A84. Фармацевтическая композиция по любому из аспектов A1-A35 и A41-A78, включающая: (a) около 150 мг/мл ниволумаба; (b) около 20 мМ гистидина; (c) около 250 мМ сахарозы; (d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80; (e) около 50 мкМ пентетовой кислоты; (f) около 5 мМ метионина; (g) около 2000 Ед/мл rHuPH20; и (h) анти-TIM3 антитело.

[0152] Аспект A85. Флакон, содержащий фармацевтическую композицию по любому из аспектов A1-A84.

[0153] Аспект A86. Шприц, содержащий фармацевтическую композицию по любому из аспектов A1-A84.

[0154] Аспект A87. Автоинжектор, содержащий фармацевтическую композицию по любому из аспектов A1-A84.

[0155] Аспект A88. Носимый насос, содержащий фармацевтическую композицию по любому из аспектов A1-A84.

[0156] Аспект A89. Шприц по аспекту A86, дополнительно содержащий плунжер.

[0157] Аспект A90. Способ лечения заболевания или расстройства у субъекта, нуждающегося в этом, включающий введение субъекту фармацевтически

эффективного количества фармацевтической композиции по любому из аспектов A1-A84.

[0158] Аспект A91. Способ по аспекту A90, где фармацевтическую композицию вводят подкожно.

[0159] Аспект A92. Способ по аспекту A90 или A91, где заболевание или расстройство представляет собой инфекционное заболевание.

[0160] Аспект A93. Способ по аспекту A90 или A91, где заболевание или расстройство представляет собой рак.

[0161] Аспект A94. Способ по аспекту A93, где рак выбран из плоскоклеточной карциномы, мелкоклеточного рака легкого (МРЛ), немелкоклеточного рака легкого (НМРЛ), сквамозного НМРЛ, несквамозного НМРЛ, глиомы, рака желудочно-кишечного тракта, рака почек, прозрачно-клеточной карциномы, рака яичников, рака печени, колоректального рака, рака эндометрия, рака почек, почечно-клеточной карциномы (ПКР), рака простаты, гормонорефрактерной аденокарциномы простаты, рака щитовидной железы, нейробластомы, рака поджелудочной железы, глиобластомы, мультиформной глиобластомы, рака шейки матки, рака желудка, рака мочевого пузыря, гепатомы, рака молочной железы, карциномы толстой кишки, рака головы и шеи, рака желудка, герминогенной опухоли, детской саркомы, синоназального естественного киллера, меланомы, рака костей, рака кожи, рака матки, рака анальной области, рака яичек, карциномы фаллопиевых труб, карциномы эндометрия, карциномы шейки матки, карциномы влагалища, карциномы вульвы, рака пищевода, рака тонкой кишки, рака эндокринной системы, рака паращитовидной железы, рака надпочечников, саркомы мягких тканей, рака уретры, рака полового члена, рака прямой кишки, солидных опухолей детского возраста, рака мочеточника, карциномы почечной лоханки, новообразования центральной нервной системы (ЦНС), первичной лимфомы ЦНС, опухолевого ангиогенеза, опухоли оси позвоночника, рака мозга, глиомы ствола мозга, аденомы гипофиза, саркомы Капоши, эпидермоидного рака, плоскоклеточного рака, рака, вызванного окружающей средой, включая рак, вызванный асбестом, рака, связанного с вирусами, или рака вирусного происхождения (например, вирус папилломы человека (опухоли, связанные с ВПЧ или вызванные ВПЧ)) и любой их комбинации.

[0162] Аспект B1. Способ лечения нуждающегося в этом субъекта, включающий подкожное введение субъекту эффективной дозы фармацевтической композиции, включающей антитело, которое специфически связывает PD-1 или PD-

L1 и ингибирует взаимодействие PD-1 и PD-L1 («анти-PD-1 антитело» или «анти-PD-L1 антитело», соответственно); где эффективная доза включает одну или более единичных доз для подкожного введения, при этом по меньшей мере одна из единичных доз для подкожного введения имеет общий объем менее чем около 5 мл, менее чем около 4,5 мл, менее чем около 4,0 мл, менее чем около 3,5 мл, менее чем около 3,0 мл, менее чем около 3 мл или менее чем около 2,5 мл; и где эффективная доза включает от по меньшей мере около 250 мг до по меньшей мере около 2400 мг антитела.

[0163] Аспект B2. Способ по аспекту B1, где фармацевтическая композиция не включает гиалуронидазу.

[0164] Аспект B3. Способ по аспекту B1 или B2, где эффективная доза включает две или более единичные дозы для подкожного введения, и где две или более единичные дозы для подкожного введения вводятся одновременно или последовательно.

[0165] Аспект B4. Способ по аспекту B3, где две или более единичные дозы для подкожного введения вводятся последовательно, причем каждая из двух или более единичных доз для подкожного введения вводится с интервалом около 10 минут, около 15 минут, около 20 минут, около 30 минут, около 45 минут, около одного часа, около двух часов, около трех часов, около четырех часов, около пяти часов, около шести часов, около девяти часов, около двенадцати часов, около восемнадцати часов или около двадцати четырех часов между двумя или более единичными дозами для подкожного введения.

[0166] Аспект B5. Способ по любому из аспектов B1-B4, где эффективную дозу вводят приблизительно каждые одну, две, три или четыре недели.

[0167] Аспект B6. Способ по любому из аспектов B1-B5, где антитело включает анти-PD-1 антитело.

[0168] Аспект B7. Способ по любому из аспектов B1-B6, где эффективная доза антитела составляет от около 250 мг до около 600 мг антитела, вводимого приблизительно каждую неделю.

[0169] Аспект B8. Способ по любому из аспектов B1-B7, где эффективная доза антитела составляет около 250 мг, около 260 мг, около 270 мг, около 280 мг, около 290 мг, около 300 мг, около 310 мг, около 320 мг, около 330 мг, около 340 мг, около 350 мг, около 360 мг, около 370 мг, около 380 мг, около 390 мг, около 400 мг, около 410 мг, около 420 мг, около 430 мг, около 440 мг, около 450 мг, около 460 мг, около 470

мг, около 480 мг, около 490 мг, около 500 мг, около 510 мг, около 520 мг, около 530 мг, около 540 мг, около 550 мг, около 560 мг, около 570 мг, около 580 мг, около 590 мг или около 600 мг, вводимых приблизительно каждую неделю.

[0170] Аспект B9. Способ по любому из аспектов B1-8, где эффективная доза антитела составляет около 300 мг, вводимых приблизительно каждую неделю.

[0171] Аспект B10. Способ по аспекту B9, где эффективная доза антитела включает однократную единичную дозу для подкожного введения около 300 мг.

[0172] Аспект B11. Способ по аспекту B9 или 10, где эффективная доза антитела включает однократную единичную дозу для подкожного введения около 300 мг в общем вводимом объеме около 2 мл.

[0173] Аспект B12. Способ по аспекту B9, где эффективная доза антитела включает (i) две единичные дозы для подкожного введения, где каждая из двух единичных доз для подкожного введения включает около 150 мг антитела; или (ii) три единичные дозы для подкожного введения, где каждая из трех единичных доз для подкожного введения включает около 100 мг антитела.

[0174] Аспект B13. Способ по аспекту B12, где (i) по меньшей мере одна из двух единичных доз для подкожного введения включает около 150 мг антитела в общем объеме менее чем около 5 мл; и (ii) по меньшей мере одна из трех единичных доз для подкожного введения включает около 100 мг антитела в общем объеме около 2 мл.

[0175] Аспект B14. Способ по аспекту B12 или B13, где (i) две единичные дозы для подкожного введения вводятся субъекту в двух разных местах тела или (ii) по меньшей мере две из трех единичных доз для подкожного введения вводятся субъекту по меньшей мере в двух разных местах тела.

[0176] Аспект B15. Способ по любому из аспектов B1-B6, где эффективная доза антитела составляет от около 300 мг до около 900 мг, вводимых приблизительно каждые две недели.

[0177] Аспект B16. Способ по аспекту B15, где эффективная доза антитела составляет около 300 мг, около 350 мг, около 400 мг, около 450 мг, около 500 мг, около 510 мг, около 520 мг, около 530 мг, около 540 мг, около 550 мг, около 560 мг, около 570 мг, около 580 мг, около 590 мг, около 600 мг, около 610 мг, около 620 мг, около 630 мг, около 640 мг, около 650 мг, около 660 мг, около 670 мг, около 680 мг, около 690 мг, около 700 мг, около 710 мг, около 720 мг, около 730 мг, около 740 мг, около 750 мг, около 760 мг, около 770 мг, около 780 мг, около 790 мг, около 800 мг, около

810 мг, около 820 мг, около 830 мг, около 840 мг, около 850 мг, около 860 мг, около 870 мг, около 880 мг, около 890 мг или около 900 мг, вводимых приблизительно каждые две недели.

[0178] Аспект B17. Способ по аспекту B15 или B16, где эффективная доза антитела составляет около 600 мг, вводимых приблизительно каждые две недели.

[0179] Аспект B18. Способ по аспекту B17, где эффективная доза антитела включает однократную единичную дозу для подкожного введения.

[0180] Аспект B19. Способ по аспекту B17, где эффективная доза антитела включает две, три или по меньшей мере четыре единичные дозы для подкожного введения.

[0181] Аспект B20. Способ по аспекту B17 или B19, где эффективная доза антитела включает две единичные дозы для подкожного введения, причем каждая из двух единичных доз для подкожного введения включает около 300 мг антитела.

[0182] Аспект B21. Способ по аспекту B20, где по меньшей мере одна из двух единичных доз для подкожного введения включает около 300 мг антитела в общем объеме около 2 мл.

[0183] Аспект B22. Способ по любому из аспектов B19-B21, где по меньшей мере две из единичных доз для подкожного введения вводятся субъекту по меньшей мере в двух разных местах тела.

[0184] Аспект B23. Способ по любому из аспектов B1-B6, где эффективная доза антитела составляет от около 900 мг до около 1500 мг, вводимых приблизительно каждые четыре недели.

[0185] Аспект B24. Способ по аспекту B23, где эффективная доза антитела составляет около 900, около 950, около 1000 мг, около 1010 мг, около 1020 мг, около 1030 мг, около 1040 мг, около 1050 мг, около 1060 мг, около 1070 мг, около 1080 мг, около 1090 мг, около 1100 мг, около 1110 мг, около 1120 мг, около 1130 мг, около 1140 мг, около 1150 мг, около 1160 мг, около 1170 мг, около 1180 мг, около 1190 мг, около 1200 мг, около 1210 мг, около 1220 мг, около 1230 мг, около 1240 мг, около 1250 мг, около 1260 мг, около 1270 мг, около 1280 мг, около 1290 мг, около 1300 мг, около 1310 мг, около 1320 мг, около 1330 мг, около 1340 мг, около 1350 мг, около 1360 мг, около 1370 мг, около 1380 мг, около 1390 мг, около 1400 мг, около 1410 мг, около 1420 мг, около 1430 мг, около 1440 мг, около 1450 мг, около 1460 мг, около 1470 мг, около 1480 мг, около 1490 мг или около 1500 мг, вводимых приблизительно каждые четыре недели.

[0186] Аспект B25. Способ по аспекту B23 или B24, где эффективная доза антитела составляет около 1200 мг, вводимых приблизительно каждые четыре недели.

[0187] Аспект B26. Способ по любому из аспектов B23-B25, где эффективная доза антитела включает две, три, четыре, шесть или по меньшей мере восемь единичных доз для подкожного введения.

[0188] Аспект B27. Способ по любому из аспектов B23-B26, где эффективная доза антитела включает четыре единичные дозы для подкожного введения, причем каждая из четырех единичных доз для подкожного введения включает около 300 мг антитела.

[0189] Аспект B28. Способ по аспекту B27, где по меньшей мере одна из четырех единичных доз для подкожного введения включает около 300 мг антитела в общем объеме около 2 мл.

[0190] Аспект B29. Способ по любому из аспектов B26-2B8, где по меньшей мере две из единичных доз для подкожного введения вводятся субъекту по меньшей мере в два разных места тела.

[0191] Аспект B30. Способ по любому из аспектов B26-B29, где две, три, четыре, шесть или по меньшей мере восемь единичных доз для подкожного введения вводятся в один и тот же день.

[0192] Аспект B31. Способ по любому из аспектов B1-B5, где антитело включает анти-PD-L1 антитело.

[0193] Аспект B32. Способ по аспекту B31, где эффективная доза антитела составляет от около 900 мг до около 1800 мг антитела, вводимого приблизительно каждые две недели.

[0194] Аспект B33. Способ по аспекту B31 или B32, где эффективная доза антитела составляет около 900, около 950, около 1000, около 1010 мг, около 1020 мг, около 1030 мг, около 1040 мг, около 1050 мг, около 1060 мг, около 1070 мг, около 1080 мг, около 1090 мг, около 1100 мг, около 1110 мг, около 1120 мг, около 1130 мг, около 1140 мг, около 1150 мг, около 1160 мг, около 1170 мг, около 1180 мг, около 1190 мг, около 1200 мг, около 1210 мг, около 1220 мг, около 1230 мг, около 1240 мг, около 1250 мг, около 1260 мг, около 1270 мг, около 1280 мг, около 1290 мг, около 1300 мг, около 1310 мг, около 1320 мг, около 1330 мг, около 1340 мг, около 1350 мг, около 1360 мг, около 1370 мг, около 1380 мг, около 1390 мг, около 1400 мг, около 1410 мг, около 1420 мг, около 1430 мг, около 1440 мг, около 1450 мг, около 1460 мг, около 1470 мг, около 1480 мг, около 1490 мг, около 1500 мг, вводимых приблизительно каждые две недели.

[0195] Аспект B34. Способ по любому из аспектов B31-B33, где эффективная доза антитела составляет около 1200 мг приблизительно каждые две недели.

[0196] Аспект B35. Способ по любому из аспектов B31-B34, где эффективная доза включает две, три, четыре, шесть или по меньшей мере восемь единичных доз для подкожного введения.

[0197] Аспект B36. Способ по любому из аспектов B31-B35, где эффективная доза антитела включает четыре единичные дозы для подкожного введения , причем каждая из четырех единичных доз для подкожного введения включает около 300 мг антитела.

[0198] Аспект B37. Способ по аспекту B36, где по меньшей мере одна из четырех единичных доз для подкожного введения включает около 300 мг антитела в общем объеме около 2 мл.

[0199] Аспект B38. Способ по любому из аспектов B35-B37, где по меньшей мере две из единичных доз для подкожного введения вводятся субъекту по меньшей мере в два разных места тела.

[0200] Аспект B39. Способ по любому из аспектов B35-B38, где две, три, четыре, шесть или по меньшей мере восемь единичных доз для подкожного введения вводятся в один и тот же день.

[0201] Аспект B40. Способ по любому из аспектов B1-B30, где анти-PD-1 антитело включает антитело, выбранное из группы, состоящей из ниволумаба, пембролизумаба, PDR001, MEDI-0680, цемиплимаба, торипалимаба, тислелизумаба, INCSHR1210, TSR-042, GLS-010, AM-0001, STI-1110, AGEN2034, MGA012, BCD-100, IBI308, KN035, сасанлимаба и любой их комбинации.

[0202] Аспект B41. Способ по любому из аспектов B1-B30, где анти-PD-1 антитело перекрестно конкурирует с ниволумабом за связывание с PD-1 человека.

[0203] Аспект B42. Способ по аспекту B40, где анти-PD-1 антитело включает ниволумаб.

[0204] Аспект B43. Способ по аспекту B40, где анти-PD-1 антитело включает пембролизумаб.

[0205] Аспект B44. Способ по любому из аспектов B1-B5 и B7-B39, где анти-PD-L1 антитело включает антитело, выбранное из группы, состоящей из BMS-936559, атезолизумаба, дурвалумаба, авелумаба, STI-1014, CX-072, KN035, LY3300054, BGB-A333, CK-301 и любой их комбинации.

[0206] Аспект B45. Способ по любому из аспектов B1-B44, где субъект

поражен раком.

[0207] Аспект B46. Способ по аспекту B45, где рак выбран из плоскоклеточной карциномы, мелкоклеточного рака легкого (МРЛ), немелкоклеточного рака легкого (НМРЛ), сквамозного НМРЛ, несквамозного НМРЛ, глиомы, рака желудочно-кишечного тракта, рака почек, прозрачно-клеточной карциномы, рака яичников, рака печени, колоректального рака, рака эндометрия, рака почек, почечно-клеточной карциномы (ПКР), рака простаты, гормонорефрактерной аденокарциномы простаты, рака щитовидной железы, нейробластомы, рака поджелудочной железы, глиобластомы, мультиформной глиобластомы, рака шейки матки, рака желудка, рака мочевого пузыря, гепатомы, рака молочной железы, карциномы толстой кишки, рака головы и шеи, рака желудка, герминогенной опухоли, детской саркомы, синоназального естественного киллера, меланомы, рака костей, рака кожи, рака матки, рака анальной области, рака яичек, карциномы фаллопиевых труб, карциномы эндометрия, карциномы шейки матки, карциномы влагалища, карциномы вульвы, рака пищевода, рака тонкой кишки, рака эндокринной системы, рака паращитовидной железы, рака надпочечников, саркомы мягких тканей, рака уретры, рака полового члена, рака прямой кишки, солидных опухолей детского возраста, рака мочеточника, карциномы почечной лоханки, новообразования центральной нервной системы (ЦНС), первичной лимфомы ЦНС, опухолевого ангиогенеза, опухоли оси позвоночника, рака мозга, глиомы ствола мозга, аденомы гипофиза, саркомы Капоши, эпидермоидного рака, плоскоклеточного рака, рака, вызванного окружающей средой, включая рак, вызванный асбестом, рака, связанного с вирусами, или рака вирусного происхождения (например, вирус папилломы человека (опухоли, связанные с ВПЧ или вызванные ВПЧ)) и любой их комбинации.

[0208] Аспект B47. Способ по любому из аспектов B1-B46, где фармацевтическая композиция вводится с помощью автоинжектора.

[0209] Аспект B48. Способ по любому из аспектов B1-B46, где фармацевтическая композиция вводится с помощью носимого насоса.

[0210] Аспект B49. Способ по любому из аспектов B1-B48, где фармацевтическую композицию вводят субъекту подкожной инфузией в течение менее чем около 10 минут.

[0211] Аспект B50. Способ по любому из аспектов B1-B49, где фармацевтическая композиция вводится субъекту подкожной инфузией в течение менее чем около 5 минут.

[0212] Аспект B51. Способ по любому из аспектов B1-B50, где фармацевтическая композиция дополнительно включает по меньшей мере два антиоксиданта.

[0213] Аспект B52. Способ по аспекту B51, где по меньшей мере два антиоксиданта выбраны из метионина, триптофана, гистидина, цистеина, аскорбиновой кислоты, глицина, DTPA и EDTA.

[0214] Аспект B53. Способ по аспекту B51 или 52, где по меньшей мере два антиоксиданта включают (i) метионин и EDTA или (ii) метионин и DTPA.

[0215] Аспект B54. Способ по любому из аспектов B51-B53, где по меньшей мере два антиоксиданта включают по меньшей мере от около 1 до около 20 мМ метионина.

[0216] Аспект B55. Способ по любому из аспектов B51-B54, где по меньшей мере два антиоксиданта включают по меньшей мере около 1 мМ, по меньшей мере около 1,5 мМ, по меньшей мере около 2 мМ, по меньшей мере около 2,5 мМ, по меньшей мере около 3 мМ, по меньшей мере около 3,5 мМ, по меньшей мере около 4 мМ, по меньшей мере около 4,5 мМ, по меньшей мере около 5 мМ, по меньшей мере около 5,5 мМ, по меньшей мере около 6 мМ, по меньшей мере около 6,5 мМ, по меньшей мере около 7 мМ, по меньшей мере около 7,5 мМ, по меньшей мере около 8 мМ, по меньшей мере около 8,5 мМ, по меньшей мере около 9 мМ, по меньшей мере около 9,5 мМ, по меньшей мере около 10 мМ, по меньшей мере около 11 мМ, по меньшей мере около 12 мМ, по меньшей мере около 13 мМ, по меньшей мере около 14 мМ, по меньшей мере около 15 мМ, по меньшей мере около 16 мМ, по меньшей мере около 17 мМ, по меньшей мере около 18 мМ, по меньшей мере около 19 мМ или по меньшей мере около 20 мМ метионина.

[0217] Аспект B56. Способ по любому из аспектов B51-B55, где по меньшей мере два антиоксиданта включают около 5 мМ метионина.

[0218] Аспект B57. Способ по любому из аспектов B51-B56, где по меньшей мере два антиоксиданта включают по меньшей мере от около 10 мкМ до около 200 мкМ DTPA.

[0219] Аспект B58. Способ по любому из аспектов B51-B57, где по меньшей мере два антиоксиданта включают по меньшей мере около 10 мкМ, по меньшей мере около 15 мкМ, по меньшей мере около 20 мкМ, по меньшей мере около 25 мкМ, по меньшей мере около 30 мкМ, по меньшей мере около 35 мкМ, по меньшей мере около 40 мкМ, по меньшей мере около 45 мкМ, по меньшей мере около 50 мкМ, по меньшей

мере около 55 мкМ, по меньшей мере около 60 мкМ, по меньшей мере около 65 мкМ, по меньшей мере около 70 мкМ, по меньшей мере около 75 мкМ, по меньшей мере около 80 мкМ, по меньшей мере около 85 мкМ, по меньшей мере около 90 мкМ, по меньшей мере около 95 мкМ, по меньшей мере около 100 мкМ, по меньшей мере около 110 мкМ, по меньшей мере около 120 мкМ, по меньшей мере около 130 мкМ, по меньшей мере около 140 мкМ, по меньшей мере около 150 мкМ, по меньшей мере около 160 мкМ, по меньшей мере около 170 мкМ, по меньшей мере около 180 мкМ, по меньшей мере около 190 мкМ или по меньшей мере около 200 мкМ DTPA.

[0220] Аспект B59. Способ по любому из аспектов B51-B58, где по меньшей мере два антиоксиданта включают около 50 мкМ DTPA.

[0221] Аспект B60. Способ по любому из аспектов B1-B59, где фармацевтическая композиция включает от по меньшей мере около 20 мг/мл до по меньшей мере около 200 мг/мл анти-PD-1 антитела.

[0222] Аспект B61. Способ по любому из аспектов B1-B60, где фармацевтическая композиция включает от по меньшей мере около 135 мг/мл до по меньшей мере около 180 мг/мл анти-PD-1 антитела.

[0223] Аспект B62. Способ по любому из аспектов B1-B61, где фармацевтическая композиция включает от по меньшей мере около 108 мг/мл до по меньшей мере около 132 мг/мл анти-PD-1 антитела.

[0224] Аспект B63. Способ по любому из аспектов B1-B60, где фармацевтическая композиция включает по меньшей мере около 20 мг/мл, по меньшей мере около 30 мг/мл, по меньшей мере около 40 мг/мл, по меньшей мере около 50 мг/мл, по меньшей мере около 60 мг/мл, по меньшей мере около 70 мг/мл, по меньшей мере около 80 мг/мл, по меньшей мере около 90 мг/мл, по меньшей мере около 100 мг/мл, по меньшей мере около 110 мг/мл, по меньшей мере около 120 мг/мл, по меньшей мере около 130 мг/мл, по меньшей мере около 140 мг/мл, по меньшей мере около 150 мг/мл, по меньшей мере около 160 мг/мл, по меньшей мере около 170 мг/мл, по меньшей мере около 180 мг/мл, по меньшей мере около 190 мг/мл или по меньшей мере около 200 мг/мл анти-PD-1 антитела.

[0225] Аспект B64. Способ по любому из аспектов B1-B63, где фармацевтическая композиция включает около 120 мг/мл анти-PD-1 антитела.

[0226] Аспект B65. Способ по любому из аспектов B1-B63, где фармацевтическая композиция включает около 150 мг/мл анти-PD-1 антитела.

[0227] Аспект B66. Способ по любому из аспектов B1-B65, где

фармацевтическая композиция дополнительно включает модификатор тоничности и/или стабилизатор.

[0228] Аспект B67. Способ по аспекту B66, где модификатор тоничности и/или стабилизатор включает сахар, аминокислоту, полиол, соль или их комбинацию.

[0229] Аспект B68. Способ по аспекту B66 или B67, где модификатор тоничности и/или стабилизатор выбран из группы, состоящей из сахарозы, сорбита, трегалозы, маннита, глицерина, глицина, лейцина, изолейцина, хлорида натрия, пролина, аргинина, гистидина и любой их комбинации.

[0230] Аспект B69. Способ по любому из аспектов B66-B68, где модификатор тоничности включает сахарозу.

[0231] Аспект B70. Способ по любому из аспектов B1-B69, где фармацевтическая композиция включает от по меньшей мере около 10 мМ до по меньшей мере около 500 мМ сахарозы.

[0232] Аспект B71. Способ по любому из аспектов B1-B70, где фармацевтическая композиция включает по меньшей мере около 10 мМ, по меньшей мере около 20 мМ, по меньшей мере около 30 мМ, по меньшей мере около 40 мМ, по меньшей мере около 50 мМ, по меньшей мере около 60 мМ, по меньшей мере около 70 мМ, по меньшей мере около 80 мМ, по меньшей мере около 90 мМ, по меньшей мере около 100 мМ, по меньшей мере около 110 мМ, по меньшей мере около 120 мМ, по меньшей мере около 130 мМ, по меньшей мере около 140 мМ, по меньшей мере около 150 мМ, по меньшей мере около 160 мМ, по меньшей мере около 170 мМ, по меньшей мере около 180 мМ, по меньшей мере около 190 мМ, по меньшей мере около 200 мМ, по меньшей мере около 210 мМ, по меньшей мере около 220 мМ, по меньшей мере около 230 мМ, по меньшей мере около 240 мМ, по меньшей мере около 250 мМ, по меньшей мере около 260 мМ, по меньшей мере около 270 мМ, по меньшей мере около 280 мМ, по меньшей мере около 290 мМ, по меньшей мере около 300 мМ, по меньшей мере около 310 мМ, по меньшей мере около 320 мМ, по меньшей мере около 330 мМ, по меньшей мере около 340 мМ, по меньшей мере около 350 мМ, по меньшей мере около 360 мМ, по меньшей мере около 370 мМ, по меньшей мере около 380 мМ, по меньшей мере около 390 мМ, по меньшей мере около 400 мМ, по меньшей мере около 410 мМ, по меньшей мере около 420 мМ, по меньшей мере около 430 мМ, по меньшей мере около 440 мМ, по меньшей мере около 450 мМ, по меньшей мере около 460 мМ, по меньшей мере около 470 мМ, по меньшей мере около 480 мМ, по меньшей мере около 490 мМ или по меньшей мере около 500 мМ сахарозы.

[0233] Аспект B72. Способ по любому из аспектов B1-B71, где фармацевтическая композиция включает около 250 мМ сахарозы.

[0234] Аспект B73. Способ по любому из аспектов B1-B72, где фармацевтическая композиция дополнительно включает буферный агент.

[0235] Аспект B74. Способ по аспекту B73, где буферный агент выбран из гистидина, сукцината, трометамина, фосфата натрия, ацетата натрия и цитрата натрия.

[0236] Аспект B75. Способ по аспекту B73 или 74, где буферный агент включает гистидин.

[0237] Аспект B76. Способ по любому из аспектов B1-B75, где фармацевтическая композиция включает от по меньшей мере около 5 мМ до по меньшей мере около 100 мМ гистидина.

[0238] Аспект B77. Способ по любому из аспектов B1-B76, в котором фармацевтическая композиция включает по меньшей мере около 5 мМ, по меньшей мере около 10 мМ, по меньшей мере около 15 мМ, по меньшей мере около 20 мМ, по меньшей мере около 25 мМ, по меньшей мере около 30 мМ, по меньшей мере около 35 мМ, по меньшей мере около 40 мМ, по меньшей мере около 45 мМ, по меньшей мере около 50 мМ, по меньшей мере около 60 мМ, по меньшей мере около 70 мМ, по меньшей мере около 80 мМ, по меньшей мере около 90 мМ или по меньшей мере около 100 мМ гистидина.

[0239] Аспект B78. Способ по любому из аспектов B1-B49, где фармацевтическая композиция включает около 20 мМ гистидина.

[0240] Аспект B79. Способ по любому из аспектов B1-B78, где фармацевтическая композиция дополнительно включает поверхностно-активное вещество.

[0241] Аспект B80. Способ по аспекту B79, где поверхностно-активное вещество выбрано из группы, состоящей из полисорбата 20, полисорбата 80 и полоксамера 188.

[0242] Аспект B81. Способ по аспекту B79 или B80, где поверхностно-активное вещество включает полисорбат 80.

[0243] Аспект B82. Способ по любому из аспектов B1-B81, где фармацевтическая композиция включает от по меньшей мере около 0,01% масс./об. до по меньшей мере около 0,1% масс./об. полисорбата 80.

[0244] Аспект B83. Способ по любому из аспектов B1-B82, где фармацевтическая композиция включает по меньшей мере около 0,01% масс./об., по

меньшей мере около 0,02% масс./об., по меньшей мере около 0,03% масс./об., по меньшей мере около 0.04% масс./об., по меньшей мере около 0,05% масс./об., по меньшей мере около 0,06% масс./об., по меньшей мере около 0,07% масс./об., по меньшей мере около 0,08% масс./об., по меньшей мере около 0,09% масс./об. или по меньшей мере около 0,1% масс./об. полисорбата 80.

[0245] Аспект B84. Способ по любому из аспектов B1-B83, где фармацевтическая композиция включает около 0,05% масс./об. полисорбата 80.

[0246] Аспект B85. Способ по любому из аспектов B1-B30, B40-B43 и B45-B84, где фармацевтическая композиция включает: (a) около 150 мг/мл анти-PD-1 антитела; (b) около 20 мМ гистидина; (c) около 250 мМ сахарозы; (d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80; (e) около 50 мкМ пентетовой кислоты; и (f) около 5 мМ метионина.

[0247] Аспект B86. Способ по любому из аспектов B1-B30, B40-B43 и B45-B84, где фармацевтическая композиция включает: (a) около 120 мг/мл анти-PD-1 антитела; (b) около 20 мМ гистидина; (c) около 250 мМ сахарозы; (d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80; (e) около 50 мкМ пентетовой кислоты; и (f) около 5 мМ метионина.

[0248] Аспект B87. Способ по любому из аспектов B1-B86, где фармацевтическая композиция включает pH от около 5,2 до около 6,8.

[0249] Аспект B88. Способ по любому из аспектов B1-B87, где фармацевтическая композиция включает pH около 5,2, около 5,2, около 5,3, около 5,4, около 5,5, около 5,6, около 5,7, около 5,8, около 5,9, около 6,0, около 6,1, около 6,2, около 6,3, около 6,4, около 6,5, около 6,6, около 6,7 или около 6,8.

[0250] Аспект B89. Способ по любому из аспектов B1-B88, где фармацевтическая композиция включает pH около 6,0.

[0251] Аспект B90. Фармацевтическая композиция для применения в способе по любому из аспектов B1-B89.

[0252] Аспект B91. Фармацевтическая композиция, включающая (i) антитело, которое специфически связывает PD-1 («анти-PD-1 антитело») и (ii) по меньшей мере два антиоксиданта.

[0253] Аспект B92. Фармацевтическая композиция по аспекту B91, где по меньшей мере два антиоксиданта выбраны из метионина, триптофана, гистидина, цистеина, аскорбиновой кислоты, глицина, DTPA и EDTA.

[0254] Аспект B93. Фармацевтическая композиция по аспекту B91 или 92, где по меньшей мере два антиоксиданта включают (i) метионин и EDTA или (ii) метионин и DTPA.

[0255] Аспект B94. Фармацевтическая композиция по любому из аспектов B91-B93, где по меньшей мере два антиоксиданта включают по меньшей мере от около 1 до около 20 мМ метионина.

[0256] Аспект B95. Фармацевтическая композиция по любому из аспектов B91-B94, где по меньшей мере два антиоксиданта включают по меньшей мере около 1 мМ, по меньшей мере около 1,5 мМ, по меньшей мере около 2 мМ, по меньшей мере около 2,5 мМ, по меньшей мере около 3 мМ, по меньшей мере около 3,5 мМ, по меньшей мере около 4 мМ, по меньшей мере около 4,5 мМ, по меньшей мере около 5 мМ, по меньшей мере около 5,5 мМ, по меньшей мере около 6 мМ, по меньшей мере около 6,5 мМ, по меньшей мере около 7 мМ, по меньшей мере около 7,5 мМ, по меньшей мере около 8 мМ, по меньшей мере около 8,5 мМ, по меньшей мере около 9 мМ, по меньшей мере около 9,5 мМ, по меньшей мере около 10 мМ, по меньшей мере около 11 мМ, по меньшей мере около 12 мМ, по меньшей мере около 13 мМ, по меньшей мере около 14 мМ, по меньшей мере около 15 мМ, по меньшей мере около 16 мМ, по меньшей мере около 17 мМ, по меньшей мере около 18 мМ, по меньшей мере около 19 мМ или по меньшей мере около 20 мМ метионина.

[0257] Аспект B96. Фармацевтическая композиция по любому из аспектов B91-B95, где по меньшей мере два антиоксиданта включают около 5 мМ метионина.

[0258] Аспект B97. Фармацевтическая композиция по любому из аспектов B91-B96, где по меньшей мере два антиоксиданта включают по меньшей мере от около 10 мкМ до около 200 мкМ DTPA.

[0259] Аспект B98. Фармацевтическая композиция по любому из аспектов B91-B97, где по меньшей мере два антиоксиданта включают по меньшей мере около 10 мкМ, по меньшей мере около 15 мкМ, по меньшей мере около 20 мкМ, по меньшей мере около 25 мкМ, по меньшей мере около 30 мкМ, по меньшей мере около 35 мкМ, по меньшей мере около 40 мкМ, по меньшей мере около 45 мкМ, по меньшей мере около 50 мкМ, по меньшей мере около 55 мкМ, по меньшей мере около 60 мкМ, по меньшей мере около 65 мкМ, по меньшей мере около 70 мкМ, по меньшей мере около 75 мкМ, по меньшей мере около 80 мкМ, по меньшей мере около 85 мкМ, по меньшей мере около 90 мкМ, по меньшей мере около 95 мкМ, по меньшей мере около 100 мкМ, по меньшей мере около 110 мкМ, по меньшей мере около 120 мкМ, по меньшей мере около 130 мкМ, по меньшей мере около 140 мкМ, по меньшей мере около 150 мкМ, по меньшей мере около 160 мкМ, по меньшей мере около 170 мкМ, по меньшей мере около 180 мкМ, по меньшей мере около 190 мкМ или по меньшей мере около 200 мкМ

DTPA.

[0260] Аспект B99. Фармацевтическая композиция по любому из аспектов B91-B98, где по меньшей мере два антиоксиданта включают около 50 мкМ DTPA.

[0261] Аспект B100. Фармацевтическая композиция по любому из аспектов B91-B99, включающая от по меньшей мере около 20 мг/мл до по меньшей мере около 200 мг/мл анти-PD-1 антитела.

[0262] Аспект B101. Фармацевтическая композиция по любому из аспектов B91-B100, включающая от по меньшей мере около 135 мг/мл до по меньшей мере около 180 мг/мл анти-PD-1 антитела.

0263] Аспект B102. Фармацевтическая композиция по любому из аспектов B91-B101, включающая от по меньшей мере около 108 мг/мл до по меньшей мере около 132 мг/мл анти-PD-1 антитела.

[0264] Аспект B103. Фармацевтическая композиция по любому из аспектов B91-B100, включающая по меньшей мере около 20 мг/мл, по меньшей мере около 30 мг/мл, по меньшей мере около 40 мг/мл, по меньшей мере около 50 мг/мл, по меньшей мере около 60 мг/мл, по меньшей мере около 70 мг/мл, по меньшей мере около 80 мг/мл, по меньшей мере около 90 мг/мл, по меньшей мере около 100 мг/мл, по меньшей мере около 110 мг/мл, по меньшей мере около 120 мг/мл, по меньшей мере около 130 мг/мл, по меньшей мере около 140 мг/мл, по меньшей мере около 150 мг/мл, по меньшей мере около 160 мг/мл, по меньшей мере около 170 мг/мл, по меньшей мере около 180 мг/мл, по меньшей мере около 190 мг/мл или по меньшей мере около 200 мг/мл анти-PD-1 антитела.

[0265] Аспект B104. Фармацевтическая композиция по любому из аспектов B91-B103, включающая около 120 мг/мл анти-PD-1 антитела.

[0266] Аспект B105. Фармацевтическая композиция по любому из аспектов B91-B103, включающая около 150 мг/мл анти-PD-1 антитела.

[0267] Аспект B106. Фармацевтическая композиция по любому из аспектов B91-B105, дополнительно включающая модификатор тоничности и/или стабилизатор.

[0268] Аспект B107. Фармацевтическая композиция по аспекту B106, где модификатор тоничности и/или стабилизатор включает сахар, аминокислоту, полиол, соль или их комбинацию.

[0269] Аспект B108. Фармацевтическая композиция по аспекту B106 или B107, где модификатор тоничности и/или стабилизатор выбран из группы, состоящей из сахарозы, сорбита, трегалозы, маннита, глицерина, глицина, лейцина, изолейцина,

хлорида натрия, пролина, аргинина, гистидина и любой их комбинации.

[0270] Аспект B109. Фармацевтическая композиция по любому из аспектов B106-B108, где модификатор тоничности включает сахарозу.

[0271] Аспект B110. Фармацевтическая композиция по любому из аспектов B106-B109, включающая от по меньшей мере около 10 мМ до по меньшей мере около 500 мМ сахарозы.

[0272] Аспект B111. Фармацевтическая композиция по любому из аспектов B91-B110, включающая по меньшей мере около 10 мМ, по меньшей мере около 20 мМ, по меньшей мере около 30 мМ, по меньшей мере около 40 мМ, по меньшей мере около 50 мМ, по меньшей мере около 60 мМ, по меньшей мере около 70 мМ, по меньшей мере около 80 мМ, по меньшей мере около 90 мМ, по меньшей мере около 100 мМ, по меньшей мере около 110 мМ, по меньшей мере около 120 мМ, по меньшей мере около 130 мМ, по меньшей мере около 140 мМ, по меньшей мере около 150 мМ, по меньшей мере около 160 мМ, по меньшей мере около 170 мМ, по меньшей мере около 180 мМ, по меньшей мере около 190 мМ, по меньшей мере около 200 мМ, по меньшей мере около 210 мМ, по меньшей мере около 220 мМ, по меньшей мере около 230 мМ, по меньшей мере около 240 мМ, по меньшей мере около 250 мМ, по меньшей мере около 260 мМ, по меньшей мере около 270 мМ, по меньшей мере около 280 мМ, по меньшей мере около 290 мМ, по меньшей мере около 300 мМ, по меньшей мере около 310 мМ, по меньшей мере около 320 мМ, по меньшей мере около 330 мМ, по меньшей мере около 340 мМ, по меньшей мере около 350 мМ, по меньшей мере около 360 мМ, по меньшей мере около 370 мМ, по меньшей мере около 380 мМ, по меньшей мере около 390 мМ, по меньшей мере около 400 мМ, по меньшей мере около 410 мМ, по меньшей мере около 420 мМ, по меньшей мере около 430 мМ, по меньшей мере около 440 мМ, по меньшей мере около 450 мМ, по меньшей мере около 460 мМ, по меньшей мере около 470 мМ, по меньшей мере около 480 мМ, по меньшей мере около 490 мМ или по меньшей мере около 500 мМ сахарозы.

[0273] Аспект B112. Фармацевтическая композиция по любому из аспектов B91-B111, включающая около 250 мМ сахарозы.

[0274] Аспект B113. Фармацевтическая композиция по любому из аспектов B91-B112, дополнительно включающая буферный агент.

[0275] Аспект B114. Фармацевтическая композиция по аспекту B113, где буферный агент выбран из гистидина, сукцината, трометамина, фосфата натрия, ацетата натрия и цитрата натрия.

[0276] Аспект B115. Фармацевтическая композиция по аспекту B113 или B114, где буферный агент включает гистидин.

[0277] Аспект B116. Фармацевтическая композиция по любому из аспектов B91-B115, включающая от по меньшей мере около 5 мМ до по меньшей мере около 100 мМ гистидина.

[0278] Аспект B117. Фармацевтическая композиция по любому из аспектов B91-B116, включающая по меньшей мере около 5 мМ, по меньшей мере около 10 мМ, по меньшей мере около 15 мМ, по меньшей мере около 20 мМ, по меньшей мере около 25 мМ, по меньшей мере около 30 мМ, по меньшей мере около 35 мМ, по меньшей мере около 40 мМ, по меньшей мере около 45 мМ, по меньшей мере около 50 мМ, по меньшей мере около 60 мМ, по меньшей мере около 70 мМ, по меньшей мере около 80 мМ, по меньшей мере около 90 мМ или по меньшей мере около 100 мМ гистидина.

[0279] Аспект B118. Фармацевтическая композиция по любому из аспектов B91 -B117, включающая около 20 мМ гистидина.

[0280] Аспект B119. Фармацевтическая композиция по любому из аспектов B91 -B118, дополнительно включающая поверхностно-активное вещество.

[0281] Аспект B120. Фармацевтическая композиция по аспекту B119, где поверхностно-активное вещество выбрано из группы, состоящей из полисорбата 20, полисорбата 80 и полоксамера 188.

[0282] Аспект B121. Фармацевтическая композиция по аспекту B119 или B120, где поверхностно-активное вещество включает полисорбат 80.

[0283] Аспект B122. Фармацевтическая композиция по любому из аспектов B91-B121, включающая от по меньшей мере около 0,01% масс./об. до по меньшей мере около 0,1% масс./об. полисорбата 80.

[0284] Аспект B123. Фармацевтическая композиция по любому из аспектов B91-B122, включающая по меньшей мере около 0,01% масс./об., по меньшей мере около 0,02% масс./об., по меньшей мере около 0,03% масс./об., по меньшей мере около 0,04% масс./об., по меньшей мере около 0,05% масс./об., по меньшей мере около 0,06% масс./об., по меньшей мере около 0,07% масс./об., по меньшей мере около 0,08% масс./об., по меньшей мере около 0,09% масс./об. или по меньшей мере около 0,1% масс./об. полисорбата 80.

[0285] Аспект B124. Фармацевтическая композиция по любому из аспектов B9 -B123, включающая около 0,05% масс./об. полисорбата 80.

[0286] Аспект B125. Фармацевтическая композиция по любому из аспектов

B91-B124, включающая: (a) около 150 мг/мл анти-PD-1 антитела; (b) около 20 мМ гистидина; (c) около 250 мМ сахарозы; (d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80; (e) около 50 мкМ пентетовой кислоты; и (f) около 5 мМ метионина.

[0287] Аспект B126. Фармацевтическая композиция по любому из аспектов B91-B124, включающая: (a) около 120 мг/мл анти-PD-1 антитела; (b) около 20 мМ гистидина; (c) около 250 мМ сахарозы; (d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80; (e) около 50 мкМ пентетовой кислоты; и (f) около 5 мМ метионина.

[0288] Аспект B127. Фармацевтическая композиция по любому из аспектов B91 -B126, включающая pH от около 5,2 до около 6,8.

[0289] Аспект B128. Фармацевтическая композиция по любому из аспектов B91-B127, включающая pH около 5,2, около 5,2, около 5,3, около 5,4, около 5,5, около 5,6, около 5,7, около 5,8, около 5,9, около 6,0, около 6,1, около 6,2, около 6,3, около 6,4, около 6,5, около 6,6, около 6,7 или около 6,8.

[0290] Аспект B129. Фармацевтическая композиция по любому из аспектов B91-B128, включающая pH около 6,0.

[0291] Аспект B130. Фармацевтическая композиция по любому из аспектов B1 -B129, дополнительно включающая второе терапевтическое средство.

[0292] Аспект B131. Фармацевтическая композиция по аспекту B130, где второе терапевтическое средство представляет собой антитело.

[0293] Аспект B132. Фармацевтическая композиция по аспекту B131, где второе терапевтическое средство представляет собой ингибитор контрольной точки.

[0294] Аспект B133. Фармацевтическая композиция по аспекту B132, где ингибитор контрольной точки представляет собой антитело анти-CTLA-4, антитело анти-LAG-3, антитело анти-TIM3, антитело анти-TIGIT, антитело анти-TIM3, антитело анти-NKG2a, антитело анти-OX40, антитело анти-ICOS, антитело анти-MICA, анти-CD137 антитело, анти-KIR антитело, анти-TGFβ антитело, анти-IL-10 антитело, анти-IL-8 антитело, анти-B7-H4 антитело, анти-Fas-лиганд антитело, анти-CXCR4 антитело, анти-мезотелин антитело, анти-CD27 антитело, анти-GITR или любую их комбинацию.

[0295] Аспект B134. Флакон, содержащий фармацевтическую композицию по любому из аспектов B87-B133.

[0296] Аспект B135. Единичная доза, включающая фармацевтическую композицию по любому из аспектов B87-B133.

[0297] Аспект B136. Единичная доза, включающая: (a) около 150 мг/мл анти-

PD-1 антитела; (b) около 20 мМ гистидина; (c) около 250 мМ сахарозы; (d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80; (e) около 50 мкМ пентетовой кислоты; и (f) около 5 мМ метионина.

[0298] Аспект B137. Флакон по аспекту B134, который является автоинжектором.

[0299] Аспект B138. Автоинжектор, включающий единичную дозу по аспекту B135 или B136.

[0300] Аспект B139. Флакон по аспекту B134, который представляет собой носимое устройство.

[0301] Аспект B140. Носимое устройство, включающее единичную дозу по аспекту B135 или B136,

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ЧЕРТЕЖЕЙ

[0302] На ФИГ. 1 представлено графическое изображение данных, связанных с осмоляльностью и вязкостью составов для подкожной (SC) инъекции ниволумаба в зависимости от концентрации сахарозы в составе в соответствии с примером 1. По оси X представлена концентрация сахарозы в мМ, и по оси Y представлена осмоляльность состава в мосм/кг. Сплошные круги и сплошная линия представляют значения осмоляльности, и сплошная X и пунктирная линия представляют значения вязкости.

[0303] На ФИГ. 2 представлено графическое изображение данных, связанных с влиянием 75 мМ добавленного аргинина на вязкость состава для подкожной (SC) инъекции ниволумаба в соответствии с примером 1. По оси X представлена концентрация белка в мг/мл, и по оси Y представлена вязкость в сП при 20°C. Сплошные квадраты представляют образцы с добавлением аргинина, и сплошные ромбы представляют образцы без добавления аргинина.

[0304] ФИГ. 3 представляет собой схему исследования, направленного на оценку безопасности и эффективности различных доз подкожно вводимого анти-PD-1 антитела (например, ниволумаба) отдельно или в комбинации с гиалуронидазой (например, rHuPH20).

[0305] ФИГ. 4 представляет собой линейный график, иллюстрирующий прогностическую проверку комбинированной модели SC/IV PPK для введения ниволумаба. Отдельные точки представляют наблюдаемые данные. Линии представляют 5-й, 50-й и 95-й процентили наблюдаемых данных, соответственно.

Заштрихованные области представляют основанные на моделировании 90%-ные доверительные интервалы (Confidence Interval, CI) для 5-го (линяя нижнего тренда), 50-го (линия среднего тренда) и 95-го (линия верхнего тренда) процентилей прогнозируемых данных. Conc = концентрация; Nivo = ниволумаб; Pred-Corr = прогноз с поправкой.

[0306] ФИГ. 5A-5C представляют собой блочные диаграммы, иллюстрирующие прогнозируемые геометрические средние отношения (SC/IV) для экспозиций средней концентрации на 28-й день (Cavgd28) (ФИГ. 5A), минимальной концентрации на 28-й день (Cmind28) (ФИГ. 5B) и максимальной концентрации после первой дозы (Cmax1) (ФИГ. 5C) в зависимости от типа опухоли. КРР = колоректальный рак; ГЦК = гепатоцеллюлярный рак; Mel = меланома; НМРЛ = немелкоклеточный рак легких; и ПКК = почечно-клеточная карцинома.

[0307] ФИГ. 6 представляет собой схему исследования, направленного на оценку безопасности и эффективности 1200 мг ниволумаба в комбинации с гиалуронидазой (например, rHuPH20), вводимой подкожно один раз в 4 недели, по сравнению с 3 мг/кг ниволумаба, вводимого внутривенно один раз в 2 недели.

[0308] ФИГ. 7 представляет собой блочную диаграмму, иллюстрирующую распределение Cmind28 ниволумаба в зависимости от дозы и массы тела при дозе 3 мг/кг ниволумаба внутривенно 1 раз в 2 недели, 10 мг/кг ниволумаба внутривенно 1 раз в 2 недели и 1200 мг ниволумаба подкожно 1 раз в 4 недели.

[0309] ФИГ. 8A-8C представляют собой блочные диаграммы, иллюстрирующие наблюдаемое распределение C_{avg} (средней концентрации) (ФИГ. 8A), C_{tau} (концентрации в конце интервала дозирования) (ФИГ. 8B) и C_{max} (максимальной концентрации) (ФИГ. 8C) по массе после подкожного введения ниволумаба в дозе 720 мг, 960 мг или 1200 мг с rHuPH20. Пунктирной линией показаны средние геометрические значения C_{avg} (ФИГ. 8A) и C_{tau} (ФИГ. 8B) для ниволумаба 3 мг/кг IV Q2W (исторические данные) и среднее геометрическое значение C_{max} (ФИГ. 8C) для ниволумаба 10 мг/кг IV Q2W (исторические данные).

[0310] На ФИГ. 9A-9B показана экспрессия CD8 опухолевых инфильтрирующих лимфоцитов (ФИГ. 9A) и экспрессия PD-L1 в опухоли (ФИГ. 9B) через 14 дней после первой подкожной дозы ниволумаба и rHuPH20 (части A, B и D) для субъектов, страдающих немелкоклеточным раком легкого (НМРЛ), почечно-клеточной карциномой (ПКК), меланомой (Mel), гепатоцеллюлярной карциномой (ГЦК) и колоректальным раком с высокой микросателлитной нестабильностью /

дефицитом репарации несоответствия (MSI-H / dMMR CRC).

[0311] ФИГ. 10 представляет собой графическое изображение воздействия азота и воздуха в верхнем свободном пространстве на %HMW соединений для Nivo способом SEC после комбинации металлического, пероксидного и светового стресса с термическим стрессом при 30°C, в исследовании 1. RT/Свет (освещение при комнатной температуре) представляет собой непрерывный световой стресс, другие условия светового стресса рассчитаны на 3 дня. Составы 1 (воздух) и 6 (азот) имеют: 50 мкМ DTPA 5 мМ Met; Составы 2 (воздух) и 7 (азот) имеют: 0 мкМ DTPA, 0 мМ Met. Все составы также содержат 120 мг/мл Nivo, 20 мМ гистидина, 250 мМ сахарозы, 0,05% масс./об. PS80 при pH 6,0 с 2000 Ед/мл rHuPH20.

[0312] ФИГ. 11 представляет собой графическое изображение влияния различных стрессовых условий на %HMW соединений для Nivo способом SEC после комбинации металлического, пероксидного и светового стресса с термическим стрессом при 30°C, в исследовании 1. RT/Свет представляет собой непрерывный световой стресс, другие условия светового стресса рассчитаны на 3 дня. Состав 1: 50 мкМ DTPA 5 мМ Met; Состав 2: 0 мкМ DTPA, 0 мМ Мет; Состав 3: 0 мкМ DTPA, 5 мМ Мет; Состав 4: 50 мкМ DTPA, 0 мМ Мет; и Состав 5: 100 мМ EDTA, 5 мМ Мет. Все составы также содержат 120 мг/мл Nivo, 20 мМ гистидина, 250 мМ сахарозы, 0,05% масс./об. PS80 при pH 6,0 с 2000 Ед/мл rHuPH20.

[0313] ФИГ. 12 представляет собой графическое изображение образования HMW под воздействием металла - 0,5 ppm каждого из железа, хрома и меди + свет (3 дня при 1000 люкс при комнатной температуре + 1 мМ пероксид + 30°C термический стресс), в исследовании 1. Примечание: Составы 1 (воздух) и 6 (азот) полностью накладываются друг на друга и имеют наименьшее образование HMW при той же композиции состава. Состав 1 (воздух) и 6 (азот): 50 мкМ DTPA 5 мМ Met; Состав 2 (воздух) и 7 (азот): 0 мкМ DTPA, 0 мМ Met; Состав 3: 0 мкМ DTPA, 5 мМ Met; Состав 4: 50 мкМ DTPA, 0 мМ Met; и Состав 5: 100 мкМ EDTA, 5 мМ Met. Все составы также содержат 120 мг/мл Nivo, 20 мМ гистидина, 250 мМ сахарозы, 0,05% масс./об. PS80 при pH 6,0 с 2000 Ед/мл rHuPH20.

[0314] ФИГ. 13 представляет собой графическое изображение %HMW в исследовании 1 через 3 месяца при различных комбинациях металла (0,5ppm каждого из железа, хрома и меди), света (3 дня при 1000 люкс при комнатной температуре) и пероксида (1 мМ пероксида) с термическим стрессом 30°C при композиции состава с/без 5 мМ Met и 50 мкМ DTPA и 100 мкМ EDTA. Все составы также содержат 120

мг/мл Nivo, 20 мМ гистидина, 250 мМ сахарозы, 0,05% масс./об. PS80 при pH 6,0 с 2000 Ед/мл rHuPH20.

[0315] ФИГ. 14 представляет собой графическое изображение %HMW в исследовании 1 через 3 месяца под воздействием различных комбинаций металла (0,5ppm каждого из железа, хрома и меди), света (3 дня при 1000 люкс при комнатной температуре) и пероксида (1 мМ пероксида) с термическим стрессом 30°C, с включением в статистическую модель основных эффектов. График разделен по композиции состава с/без 5 мМ Met и 50 мкМ DTPA. Все составы также содержат 120 мг/мл Nivo, 20 мМ гистидина, 250 мМ сахарозы, 0,05% масс./об. PS80 при pH 6,0 с 2000 Ед/мл rHuPH20.

[0316] ФИГ. 15 представляет собой графическое изображение активности фермента rHuPH20 в исследовании 1 при хранении в течение 3 дней при комнатной температуре/темноте, затем при 30°C/темноте [контроль - слева], при RT/RL в течение 3 дней, затем при 30°C/темноте с добавлением металла и добавлением пероксида [MPL - посередине] и при комнатной температуре/комнатном освещении [RT/Свет - справа]. Составы 1 (воздух) и 6 (азот): 50 мкМ DTPA 5 мМ Met; Составы 2 (воздух) и 7 (азот): 0 мкМ DTPA, 0 мМ Met; Состав 3: 0 мкМ DTPA, 5 мМ Met; Состав 4: 50 мкМ DTPA, 0 мМ Met. Все составы также содержат 120 мг/мл Nivo, 20 мМ гистидина, 250 мМ сахарозы, 0,05% масс./об. PS80 при pH 6,0 с 2000 Ед/мл rHuPH20.

[0317] ФИГ. 16A-16F представляют собой графические изображения распределения составов исследования 2. Составы варьировались при максимальной и минимальной концентрации вспомогательного вещества со всеми другими факторами на уровне целевой композиции 120 мг/мл Nivo (ФИГ. 16A), 20 мМ гистидина (ФИГ. 16C), 250 мМ сахарозы, 50 мкМ DTPA (ФИГ. 16D), 5 мМ Met (ФИГ. 16E), 2000 Ед/мл rHPH20 (ФИГ. 16F), 0,05% масс./об. PS80 при pH 6,0 (ФИГ. 16B).

[0318] ФИГ. 17 представляет собой графическое изображение высокомолекулярных веществ по данным SEC, в различные моменты времени до 6 месяцев при 25°C, 35°C, MPL и стрессовых состояниях RT/RL при от 0 до 200 мкМ DTPA, для исследования 2. Композиция включает: 120 мг/мл Nivo, 20 мМ гистидина, 250 мМ сахарозы, 5 мМ Met, 0,05% масс./об. PS80, 2000 Ед/мл rHuPH20 при pH 6,0.

[0319] ФИГ. 18 представляет собой графическое изображение высокомолекулярных веществ по данным SEC, в различные моменты времени до 6 месяцев для 25°C, 35°C, MPL и стрессовых условий RT/RL, разделенных по концентрациям DTPA и Met в составе, для исследования 2. Композиция включает: 120

мг/мл Nivo, 20 мМ гистидина, 250 мМ сахарозы, 0,05% масс./об. PS80, 2000 Ед/мл rHuPH20 при pH 6,0.

[0320] ФИГ. 19 представляет собой графическое изображение высокомолекулярных веществ по данным SEC, в различные моменты времени до 6 месяцев, разделенных по концентрациям DTPA и Met в составе, для исследования 2. Композиция включает: 120 мг/мл Nivo, 20 мМ гистидина, 250 мМ сахарозы, 0,05% масс./об. PS80, 2000 Ед/мл rHuPH20 при pH 6,0.

[0321] ФИГ. 20 представляет собой графическое изображение зависимости %HMW по данным SEC от концентрации метионина при трех стрессовых состояниях, исследованных последними, со сглаженной кривой оценки тренда при 120 мг/мл Nivo, 20 мМ гистидина, 250 мМ сахарозы, 50 мкМ DTPA, 0,05% масс./об. PS80, 2000 Ед/мл rHuPH20 при pH 6,0.

[0322] ФИГ. 21A-21C представляют собой графические изображения моделей линейной регрессии для % суммарных HMW через 6 месяцев при 25°C (ФИГ. 21A), 3 месяца при 35°C (ФИГ. 21B) и 3 месяца с стрессом MPL (ФИГ. 21C) в зависимости от уровня Met с характеристиками соответствия для составов, содержащих 120 мг/мл Nivo, 20 мМ гистидина, 250 мМ сахарозы, 50 мкМ DTPA, 0,05% масс./об. PS80, 2000 Ед/мл rHuPH20 при pH 6,0.

[0323] ФИГ. 22A-22B представляют собой графические изображения кислотных веществ в зависимости от времени в условиях MPL (ФИГ. 22A) и 35°C стресса (ФИГ. 22B). Дублированные образцы для составов с DTPA и Met и только для DTPA. DTPA при концентрации 50 мкМ и 5 мМ Met. Состав включает 120 мг/мл Nivo, 20 мМ гистидина, 250 мМ сахарозы, 0,05% масс./об. PS80, 2000 Ед/мл rHuPH20 при pH 6,0.

[0324] ФИГ. 23A-23B представляют собой графические изображения ферментативной активности в зависимости от времени в условиях MPL (ФИГ. 23A) и 35°C стресса (ФИГ. 23B). Дублированные образцы для составов с DTPA и Met и только для DTPA. DTPA при концентрации 50 мкМ и 5 мМ Met. Состав включает 120 мг/мл Nivo, 20 мМ гистидина, 250 мМ сахарозы, 0,05% масс./об. PS80, 2000 Ед/мл rHuPH20 при pH 6,0.

[0325] ФИГ. 24A-24B представляют собой графические изображения уровней PS80 в зависимости от времени в условиях MPL (ФИГ. 24A) и 35°C стресса (ФИГ. 24B). Дублированные образцы для составов с DTPA и Met и только для DTPA. DTPA при концентрации 50 мкМ и 5 мМ Met. Состав включает 120 мг/мл Nivo, 20 мМ

гистидина, 250 мМ сахарозы, 0,05% масс./об. PS80, 2000 Ед/мл rHuPH20 при pH 6,0.

[0326] ФИГ. 25A представляет собой графическое изображение, иллюстрирующее сравнение исследований 1, 2 и 3 для высокомолекулярных веществ по данным SEC в 3-месячной временной точке для условия MPL, в присутствии 2000 Ед/мл фермента rHuPH20 и без 2000 Ед/мл фермента rHuPH20 при различных уровнях Met. ФИГ. 25B представляет собой график регрессии с результатами исследования 1, исследования 2 и исследования 3 для высокомолекулярных веществ по данным SEC в 3-месячной временной точке для состояния MPL в зависимости от Met. Состав включает 120 мг/мл Nivo, 20 мМ гистидина, 250 мМ сахарозы, 50 мкМ DTPA, 0,05% масс./об. PS80, 2000 Ед/мл rHuPH20 при pH 6,0 (ФИГ. 25A-25B).

[0327] ФИГ. 26 представляет собой гистограмму, на которой представлено сравнение $\log_{10}$(kd) для глицина, маннита, сахарозы, трегалозы и сукцината, как указано.

[0328] ФИГ. 27 представляет собой гистограмму, показывающую средний подсчет количества молекул вспомогательного вещества, взаимодействующих с Fab-группой ниволумаба в течение последних 8 нс молекулярно-динамических (МД)-симуляций для глицина, сорбита, трегалозы, маннита и сахарозы, как указано.

[0329] ФИГ. 28A-28E представляют собой иллюстрации положений связывания, найденных для каждого из глицина (ФИГ. 28A), сорбита (ФИГ. 28B), маннита (ФИГ. 28C), сахарозы (ФИГ. 28D) и трегалозы (ФИГ. 28E) на ниволумаб-Fab. Fab-группа показана в виде ленты, легко связывающие положения показаны в шаростержневом представлении, и плотно связывающие положения показаны в объемно-заполненном (полноатомном) представлении.

[0330] ФИГ. 29A-29B представляют собой гистограммы, показывающие количество уникальных положений связывания, найденных в МД-симуляциях для каждого вспомогательного вещества (глицин, сорбит, трегалоза, маннит и сахароза) для взаимодействий средней силы (ФИГ. 29A) и сильно связывающих взаимодействий (ФИГ. 29B).

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ РАСКРЫТИЯ

[0332] Существующие способы доставки анти-PD-1 антител и/или анти-PD-L1 антител требуют периодического внутривенного введения, осуществляемого врачом, часто в клинике или больнице. Такой режим часто создает значительные неудобства для пациента, и сам характер лечения может негативно сказаться на его самочувствии.

Подкожная доставка, например, с помощью автоинжектора или носимого насоса, может значительно улучшить соблюдение пациентом режима лечения и, возможно, позволит пациенту получать данную потенциально жизненно важную терапию в комфортных условиях собственного дома. Настоящее раскрытие обеспечивает способ лечения нуждающегося в этом субъекта, включающий подкожное введение субъекту дозы фармацевтической композиции, включающей (i) антитело, которое специфически связывает PD-1 или PD-L1 и ингибирует взаимодействие PD-1 и PD-L1 («анти-PD-1 антитело» или «анти-PD-L1 антитело», соответственно). В некоторых аспектах фармацевтическая композиция дополнительно включает (ii) гидролазный фермент эндогликозидазу. В некоторых аспектах доза включает одну или более единичных доз для подкожного введения.

[0333] В некоторых аспектах фармацевтическая композиция не включает гидролазный фермент эндогликозидазу. В некоторых аспектах по меньшей мере одна из единичных доз для подкожного введения имеет общий объем менее чем около 5 мл (например, менее чем около 4,5 мл, менее чем около 4,0 мл, менее чем около 3,5 мл, менее чем около 3,0 мл, менее чем около 3 мл или менее чем около 2,5 мл). В некоторых аспектах доза включает от по меньшей мере около 250 мг до по меньшей мере около 2400 мг антитела.

I. Термины

[0334] Для того чтобы настоящее изобретение можно было легче понять, сначала определяются некоторые термины. Как используется в настоящем описании, за исключением случаев, прямо предусмотренных в настоящем документе, каждый из следующих терминов характеризуется изложенным ниже смыслом. Дополнительные определения приведены на протяжении всего описания.

[0335] Следует понимать, что всякий раз, когда аспекты описываются в настоящем документе с использованием формулировки "содержащий", также предусмотрены аналогичные аспекты, описанные в терминах "состоящий из" и/или "состоящий по существу из".

[0336] Если не указано иное, использованные в настоящем документе технические или научные термины имеют такие же значения, которые являются в большинстве случаев понятными для специалиста в настоящей области техники, к которой принадлежит настоящее изобретение. Например, the Concise Dictionary of Biomedicine and Molecular Biology, Juo, Pei- Show, 2nd ed., 2002, CRC Press; The

Dictionary of Cell and Molecular Biology, 3rd ed., 1999, Academic Press; and the Oxford Dictionary of Biochemistry and Molecular Biology, Revised, 2000, Oxford University Press, предоставляют специалисту в настоящей области техники общее руководство в отношении многих используемых в настоящей заявке терминов.

[0337] Единицы, префиксы и символы обозначаются в форме, принятой в Международной системе единиц (СИ). Числовые диапазоны включают числа, определяющие диапазон. Если не указано иное, нуклеотидные последовательности записываются слева направо в ориентации от 5' к 3'. Аминокислотные последовательности записаны слева направо в ориентации от амино к карбокси. Приведенные в настоящем описании заголовки не являются ограничениями различных аспектов раскрытия, которые могут быть получены путем ссылки на описание в целом. Соответственно, термины, определенные непосредственно ниже, более полно определены посредством ссылки на описание в целом.

[0338] "Введение" относится к физическому введению содержащей терапевтическое средство композиции субъекту с использованием любого из различных способов и систем доставки, известных специалистам в настоящей области техники. Введение может относиться к любой форме введения иммунотерапии, например, анти-PD-1 антитела или анти-PD-L1 антитела, включая в себя внутривенное, внутримышечное, подкожное, внутрибрюшинное, спинальное или другие парентеральные способы введения, например путем инъекции или инфузии. Фразы "подкожное введение" и "подкожная инъекция" используются взаимозаменяемо и относятся к способам введения, при которых вещество, например, композиция, включающая антитело, которое специфически связывает PD-1 или PD-L1 и ингибирует взаимодействие PD-1 и PD-L1, доставляется субъекту под кожу, между дермой и, например, мышцей.

[0339] Подкожное введение может быть осуществлено с помощью любых способов. В некоторых аспектах подкожное введение осуществляется с помощью короткой иглы или множества коротких игл. В некоторых аспектах игла или по меньшей мере одна из множества игл менее имеет длину менее чем около 1 дюйма, менее чем около 7/8 дюйма, менее чем около 6/8 дюйма, менее чем около 5/8 дюйма, менее чем около 1/2 дюйма. В некоторых аспектах длина иглы или по меньшей мере одной из множества игл составляет около 5/8 дюйма.

[0340] Введение также может быть выполнено, например, один раз, множество раз и/или в течение одного или нескольких длительных периодов времени. Таким

образом, как используется в настоящем документе, введение может относиться к одной единичной дозе или более чем одной единичной дозе.

[0341] Как используется в настоящем документе, термин "доза" или "дозировка" определяется как количество терапевтического средства, которое может быть введено в определенный момент. Доза или дозировка может быть количеством, достаточным для достижения или, по меньшей мере, частичного достижения желаемого эффекта, но такой желаемый эффект может быть не видимым или не обнаруживаемым. "Терапевтически эффективное количество" или "терапевтически эффективная доза" лекарственного или терапевтического средства представляет собой любое количество лекарственного средства, которое при использовании отдельно или в сочетании с другим терапевтическим средством, способствует регрессии заболевания, подтверждаемой уменьшением выраженности симптомов заболевания, увеличением частоты и длительности бессимптомных периодов заболевания, увеличением общей выживаемости (продолжительность периода времени с даты постановки диагноза или начала лечения заболевания, например, рака, в течение которого пациенты с таким диагнозом остаются живы) или предотвращением нарушений или инвалидностью в связи с заболеванием. Количество или дозировка лекарственного средства включает "профилактически эффективное количество" или "профилактически эффективную дозу", то есть любое количество лекарственного средства, которое при введении по отдельности или в комбинации с другим терапевтическим средством субъекту с риском развития заболевания или страдающему рецидивом заболевания ингибирует развитие или рецидив заболевания. Способность терапевтического средства содействовать регрессии заболевания может быть оценена с помощью различных способов, известных специалисту в настоящей области техники, таких как у субъектов-людей в ходе клинических испытаний, в животных модельных системах прогнозирования эффективности у людей или путем анализа активности средства в анализах *in vitro*. "Доза" может включать однократную единичную дозу или несколько единичных доз. В некоторых аспектах доза включает в себя однократную единичную дозу. В некоторых аспектах доза включает в себя несколько единичных доз.

[0342] Как используется в настоящем документе, "единичная доза" для подкожного введения относится к однократному количеству вещества, вводимого подкожной инъекцией, например, из одного флакона, одного автоинжектора и/или одного шприца. В некоторых аспектах для достижения терапевтически эффективной

дозы вводят несколько единичных доз для подкожного введения. При введении нескольких единичных доз отдельные единичные дозы могут вводиться одновременно или последовательно. В некоторых аспектах каждая единичная доза терапевтически эффективной дозы вводится в один и тот же день. Каждая единичная доза может вводиться в одно и то же место тела или в разные места тела. В некоторых аспектах первая единичная доза вводится в первое место тела и вторая единичная доза вводится во второе место тела. В способах, раскрытых в настоящем документе, могут быть использованы любые места тела, известные в данной области техники и подходящие для подкожного введения. В некоторых аспектах по меньшей мере одна единичная доза для подкожного введения вводится в место тела, выбранное из руки (например, боковой или задней части плеча), живота и передней части бедра.

[0343] Используемое в настоящем документе «нежелательное явление» (adverse event (AE)) представляет собой любой неблагоприятный и в целом непреднамеренный или нежелательный знак (включающий в себя аномальные лабораторные данные), симптом или заболевание, связанное с использованием медицинской помощи. Например, нежелательное явление может быть связано с активацией иммунной системы или расширением клеток иммунной системы (например, Т-клеток) в ответ на лечение. Лечение может характеризоваться одним или несколькими связанными с ним АЕ, и каждое АЕ может характеризоваться таким же или другим уровнем тяжести. Ссылка на способы, позволяющие «изменение нежелательных явлений», означает схему лечения, которая снижает распространенность и/или тяжесть одного или нескольких АЕ, связанных с использованием другой схемы лечения.

[0344] "Антитело" (Ab) включает в себя без ограничения гликопротеиновый иммуноглобулин, который специфически связывается с антигеном и содержит по меньшей мере две тяжелые (H) цепи и две легкие (L) цепи, соединенные дисульфидными связями, или его антигенсвязывающий участок. Каждая H-цепь содержит вариабельную область тяжелой цепи (сокращенно в настоящем документе как V_H) и константную область тяжелой цепи. Константная область тяжелой цепи содержит три константных домена, C_{H1}, C_{H2} и C_{H3}. Каждая легкая цепь содержит вариабельную область легкой цепи (сокращенно в настоящем документе как VL) и константную область легкой цепи. Константная область легкой цепи содержит один константный домен, CL. Области V_H и V_L могут дополнительно подразделяться на области гипервариабельности, называемые определяющими комплементарность

областями (CDR), перемежающиеся с областями, которые представляют собой более консервативные, называемые каркасными областями (FR). Каждая V_H и V_L содержит три CDR и четыре FR, расположенные от аминоконца к карбоксиконцу в следующем порядке: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4. Вариабельные области тяжелой и легкой цепей содержат связывающий домен, который взаимодействует с антигеном. Константные области антител могут опосредовать связывание иммуноглобулина с тканями или факторами хозяина, включая в себя различные клетки иммунной системы (например, эффекторные клетки) и первый компонент (C1q) классической системы комплемента. Таким образом, термин "анти-PD-1 антитело" включает полное антитело, имеющее две тяжелые цепи и две легкие цепи, которое специфически связывается с PD-1, и антигенсвязывающие участки полного антитела. Неограничивающие примеры антигенсвязывающих частей приведены в настоящем документе.

[0345] Иммуноглобулин может происходить от любого из общеизвестных изотипов, включающих в себя без ограничения IgA, секреторные IgA, IgG и IgM. Подклассы IgG также хорошо известны специалистам в настоящей области техники и включают в себя без ограничения человеческие IgG1, IgG2, IgG3 и IgG4. Изотип относится к классу или подклассу антитела (например, IgM или IgG1), который кодируется генами константной области тяжелой цепи. Термин «антитело» включает в себя в качестве примера как природные, так и неприродные антитела; моноклональные и поликлональные антитела; химерные и гуманизированные антитела; человеческие или нечеловеческие антитела; полностью синтетические антитела; и одноцепочечные антитела. Нечеловеческое антитело может быть гуманизированным с помощью рекомбинантных способов для уменьшения его иммуногенности у человека. Там, где явно не указано иное и если из контекста не следует иное, термин антитело также включает в себя антигенсвязывающий фрагмент или антигенсвязывающий участок любого из указанных выше иммуноглобулинов и включает в себя одновалентный и двухвалентный фрагмент или участок и одноцепочечное антитело.

[0346] В некоторых аспектах "антитело" по настоящему изобретению способно связываться с более чем одним антигеном, например, "мультиспецифическое" антитело или "биспецифическое" антитело. При использовании в настоящем документе "биспецифическое" антитело представляет собой антитело, которое способно специфически связывать два антигена, где первый и второй антиген

являются одинаковыми или разными. При использовании в настоящем документе "мультиспецифическое" антитело способно специфически связывать более одного антигена, например, по меньшей мере два (то есть "биспецифическое" антитело), по меньшей мере три (то есть "триспецифическое" антитело), по меньшей мере четыре, по меньшей мере пять или по меньшей мере шесть антигенов. Известны различные мультиспецифические антитела, которые могут быть использованы в композициях и/или способах, раскрытых в настоящем документе, включая, но не ограничиваясь ими, биспецифические антитела, которые связывают PD-1 и вторую мишень, и биспецифические антитела, которые связывают PD-L1 и вторую мишень. В некоторых аспектах мультиспецифическое антитело представляет собой Т-клеточно-зависимое биспецифическое антитело. В некоторых аспектах мультиспецифическое антитело представляет собой анти-FcRH5/CD3 биспецифическое антитело, которое нацелено на маркер линии В-клеток, FcRH5, и CD3, например, для применения в лечении множественной миеломы.

[0347] В некоторых аспектах "антитело" настоящего раскрытия сконструировано таким образом, чтобы быть активированным на целевом участке, например, "проантитело". В некоторых аспектах антитело, например, "проантитело" подвергается протеолитическому расщеплению в ткани-мишени (например, опухоли).

[0348] "Выделенное антитело" относится к антителу, которое по существу не содержит другие антитела, характеризующиеся различными антигенными специфичностями (например, выделенное антитело, которое специфически связывается с PD-1 представляет собой по существу свободное от антител, которые специфически связываются с другими антигенами, отличными от PD-1). Выделенное антитело, которое специфически связывается с PD-1, может, однако, характеризоваться перекрестной реактивностью к другим антигенам, таким как молекулы PD-1 от различных видов. Кроме того, выделенное антитело может быть по существу свободным от другого клеточного материала и/или химических веществ.

[0349] Термин "моноклональное антитело" (mAb) относится к неприродному препарату молекул антител дной молекулярной композиции, т.е. молекулам антител, чьи первичные последовательности по существу идентичны, и которые проявляют единственную специфичность связывания и аффинность к конкретному эпитопу. Моноклональное антитело представляет собой пример выделенного антитела. Моноклональные антитела могут быть получены с помощью гибридомы, рекомбинантной трансгенной или других техник, известных специалистам в

настоящей области техники.

[0350] "Человеческое антитело" (HuMAb) относится к антителу, содержащему вариабельные области, в которых обе каркасные области и области CDR выделены из последовательностей иммуноглобулина зародышевой линии человека. Кроме того, если антитело содержит константную область, константную область также получают из последовательностей зародышевой линии иммуноглобулина человека. Антитела человека согласно настоящему изобретению могут включать в себя аминокислотные остатки, не кодируемые последовательностями иммуноглобулина зародышевой линии человека (например, мутации, введенные случайным или сайт-специфическим мутагенезом *in vitro* или соматической мутацией *in vivo*). Однако используемый в настоящем документе термин «человеческое антитело» не предназначен для включения в себя антител, в которых последовательности CDR, полученные из зародышевой линии других видов млекопитающих, таких как мыши, были привиты на последовательности каркасных областей человека. Термины "человеческое антитело" и "полностью человеческое антитело" используются как синонимы.

[0351] "Гуманизированное антитело" относится к антителу, в котором некоторые, большинство или все аминокислоты за пределами доменов CDR отличного от человеческого антитела замещены соответствующими аминокислотами, полученными из человеческих иммуноглобулинов. Согласно одному аспекту гуманизированной формы антитела некоторые, большинство или все аминокислоты за пределами доменов CDR были замещены аминокислотами из иммуноглобулинов человека, тогда как некоторые, большинство или все аминокислоты в пределах одной или нескольких областей CDR представляют собой неизменные. Небольшие добавки, делеции, вставки, замены или модификации аминокислот представляют собой допустимые до тех пор, пока они не отменяют способность антитела связываться с конкретным антигеном. "Гуманизированное антитело" сохраняет антигенную специфичность, аналогичную Исходному антителу.

[0352] "Химерное антитело" относится к антителу, в котором вариабельные области получают от одного вида и константные области получают от другого вида, такому как антитело, в котором вариабельные области получают от мышиного антитела и константные области получают от человеческого антитела.

[0353] "Антитело против антигена" относится к антителу, которое специфически связывается с антигеном. Например, анти-PD-1 антитело специфически связывается с PD-1 и анти-PD-L1 антитело специфически связывается с PD-L1.

[0354] "Антигенсвязывающий участок антитела" антитела (также называемая "антигенсвязывающим фрагментом") относится к одному или нескольким фрагментам антитела, которые сохраняют способность специфически связываться с антигеном, связанным целым антителом. Было показано, что антигенсвязывающая функция антитела может выполняться фрагментами полноразмерного антитела. Примеры связывающих фрагментов, охватываемых термином "антигенсвязывающий участок" антитела, например, анти-PD-1 антитела или анти-PD-L1 антитела, описанные в настоящем документе, включают (i) Fab-фрагмент (фрагмент после расщепления папаином) или аналогичный моновалентный фрагмент, состоящий из V_L, V_H, LC и CH1 доменов; (ii) F(ab')2 фрагмент (фрагмент после расщепления пепсином) или аналогичный бивалентный фрагмент, включающий два Fab-фрагмента, соединенных дисульфидным мостиком в области петли; (iii) Fd-фрагмент, состоящий из V_H и CH1 доменов; (iv) Fv-фрагмент, состоящий из V_L и V_H доменов одного плеча антитела, (v) dAb-фрагмент (Ward *et al.*, (1989) *Nature* 341:544-546), который состоит из домена V_H; (vi) выделенную определяющую комплементарность область (CDR) и (vii) комбинацию двух или более выделенных CDR, которые по желанию могут быть соединены синтетическим линкером. Кроме того, хотя два домена Fv-фрагмента, V_L и V_H, кодируются отдельными генами, они могут быть соединены с помощью рекомбинантных способов синтетическим линкером, который позволяет им быть полученными в виде единой белковой цепи, в которой области V_L и V_H объединяются в пары, образуя моновалентные молекулы (известные как одноцепочечные Fv (scFv); *см.*, например, Bird *et al.* (1988) *Science* 242:423-426; и Huston *et al.* (1988) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 85:5879-5883). Такие одноцепочечные антитела также должны быть включены в понятие "антигенсвязывающий участок" антитела. Данные фрагменты антител получают с помощью обычных способов, известных специалистам в данной области техники, и фрагменты проверяют на применимость таким же образом, как и интактные антитела. Антигенсвязывающие участки могут быть получены с помощью способов рекомбинантной ДНК или путем ферментативного или химического расщепления интактных иммуноглобулинов.

[0355] Под "раком" понимается широкая группа различных заболеваний, характеризующихся неконтролируемым ростом аномальных клеток в организме. Нерегулируемое клеточное деление и рост приводят к образованию злокачественных опухолей, которые вторгаются в соседние ткани, а также могут метастазировать в отдаленные части организма через лимфатическую систему или кровь.

[0356] Термин "иммунотерапия" относится к лечению субъекта, страдающего от или характеризующегося риском заражения или испытания повторения заболевания с помощью способа, включающего индукцию, усиление, подавление или иную модификацию иммунного ответа. "Лечение" или "терапия" субъекта относится к любому типу вмешательства или процесса, выполняемых на, или введения активного средства субъекту с целью обращения вспять, облегчения, улучшения, препятствия, замедления или предотвращения возникновения прогрессирования, развития, тяжести или рецидива симптома, осложнения, состояния или биохимического показателя, связанного с заболеванием.

[0357] Рецептор "Programmed Death-1" (PD-1) относится к иммуноингибиторному рецептору, принадлежащему к семейству CD28. PD-1 экспрессируется преимущественно на предварительно активированных Т-клетках *in vivo* и связывается с двумя лигандами, PD-L1 и PD-L2. Используемый в настоящем документе термин "PD-1" включает в себя PD-1 человека (hPD-1), варианты, изоформы и гомологи видов hPD-1 и аналоги, содержащие по меньшей мере один общий эпитоп с hPD-1. Полную последовательность hPD-1 можно найти в GenBank, номер доступа U64863.

[0358] "Лиганд программируемой смерти-1" (Programmed Death Ligand-1 (PD-L1)) представляет собой один из двух клеточных поверхностных гликопротеиновых лигандов для PD-1 (другой PD-L2), который подавляет активацию Т-клеток и секрецию цитокинов после связывания с PD-1. Используемый в данном описании термин "PD-L1" включает в себя PD-L1 человека (hPD-L1), варианты, изоформы и гомологи видов HPD-L1 и аналоги, содержащие по меньшей мере один общий эпитоп с hPD-L1. Полную последовательность hPD-1 можно найти в GenBank, номер доступа Q9NZQ7. Белок PD-L1 человека кодируется геном CD274 человека (NCBI Gene ID: 29126).

[0359] "Гиалуронидаза", как используется в настоящем документе, относится к ферменту, способному катализировать расщепление гиалуронана. Гиалуронан представляет собой повторяющийся полимер N-ацетил-глюкозамина и глюкуроновой кислоты, который присутствует в подкожном пространстве и вносит вклад в растворимый гелеобразный компонент внеклеточного матрикса кожи и восстанавливается путем быстрого оборота (ресинтеза). В некоторых аспектах гиалуронидаза включает rHuPH20, который представляет собой гликозилированный 447-аминокислотный одноцепочечный полипептид, который деполимеризует

гиалуронан в подкожном пространстве локально в месте инъекции в кожу. Деполимеризация гиалуронана гиалуронидазой осуществляется путем гидролиза полисахаридного полимера. Деполимеризация гиалуронана приводит к временному снижению вязкости гелеобразной фазы внеклеточного матрикса и увеличению гидравлической проводимости, что облегчает дисперсию и всасывание вводимого терапевтического средства. Таким образом, гиалуронидаза, например, rHuPH20, может улучшить скорость и легкость подкожной доставки инъекционных биопрепаратов и лекарств, действуя как усилитель проницаемости. В некоторых аспектах гиалуронидаза включает ENHANZE™.

[0360] "Субъект" включает в себя любого человека или отличного от человека животного. Термин отличное от человека животное включает в себя без ограничения таких позвоночных, как нечеловекоподобные приматы, овцы, собаки, кошки, кролики и хорьки, таких грызунов, как мыши, крысы и морские свинки. Согласно предпочтительным аспектам субъект представляет собой человека. Термины "субъект" и "пациент" используются в настоящем документе как взаимозаменяемые.

[0361] Использование термина "фиксированная доза" в отношении способов и дозировок по изобретению означает дозу, которая вводится пациенту без учета массы или площади поверхности тела (ППТ (body surface area (BSA)) пациента. Поэтому фиксированная доза не предоставляется в виде дозы мг/кг, а скорее в виде абсолютного количества продукта (например, анти-PD-1 антитела). Например, человек с массой тела 60 кг и человек с массой тела 100 кг получат одинаковую дозу антитела (например, 240 мг анти-PD-1 антитела).

[0362] Термин " основанная на массе доза", как упоминается в настоящем документе, означает, что доза, вводимая пациенту, рассчитывается на основе массы пациента. Например, если пациенту с массой тела 60 кг требуется 3 мг/кг анти-PD-1 антитела, можно рассчитать и использовать соответствующее количество анти-PD-1 антитела (то есть 180 мг) для введения.

[0363] В качестве примера, "противораковое средство" способствует регрессии рака у субъекта. В некоторых аспектах терапевтически эффективное количество лекарственного средства способствует регрессии злокачественной опухоли до точки устранения злокачественной опухоли. "Содействие регрессии рака" означает, что введение терапевтически эффективного количества лекарственного средства, отдельно или в комбинации с антинеопластическим средством, приводит к снижению роста опухоли или размера, некрозу опухоли, уменьшению тяжести по меньшей мере

одного симптома заболевания, увеличению частоты и длительности бессимптомных периодов заболевания или предотвращению нарушений или инвалидности в связи с заболеванием. Кроме того, термины "эффективный" и "эффективность" в отношении лечения включают в себя как фармакологическую эффективность, так и физиологическую безопасность. Фармакологическая эффективность относится к способности лекарственного средства содействовать регрессии злокачественной опухоли у пациента. Физиологическая безопасность относится к уровню токсичности или другим неблагоприятным физиологическим эффектам на клеточном, органном и/или организменном уровне (нежелательные явления) в результате приема лекарственного средства.

[0364] В качестве примера для лечения опухолей терапевтически эффективное количество лекарственного средства предпочтительно ингибирует рост клеток или рост опухоли по меньшей мере приблизительно на 20%, более предпочтительно по меньшей мере приблизительно на 40%, еще более предпочтительно по меньшей мере приблизительно на 60% и еще более предпочтительно по меньшей мере приблизительно на 80% по отношению к субъектам без воздействия. Согласно другим предпочтительным вариантам осуществления настоящего изобретения регрессию опухоли можно наблюдать и продолжать в течение по меньшей мере приблизительно 20 дней, более предпочтительно по меньшей мере приблизительно 40 дней или даже более предпочтительно по меньшей мере приблизительно 60 дней. Несмотря на эти конечные измерения терапевтической эффективности, оценка иммунотерапевтических лекарственных средств должна тоже вносить поправку в связанные с иммунной системой паттерны ответов.

[0365] "Иммунный ответ", как понимается в данной области техники, в целом относится к биологическому ответу позвоночного организма против чужеродных средств или аномальных, например, раковых клеток, который защищает организм от данных средств и заболеваний, вызванных ими. Иммунный ответ относится к действию клетки иммунной системы (например, Т-лимфоцитов, В-лимфоцитов, клеток натуральных киллеров (NK), макрофагов, эозинофилов, тучных клеток, дендритных клеток или нейтрофилов) и растворимых макромолекул, полученных с помощью любой из этих клеток или печенью (включая в себя антитела, цитокины и комплемент), что приводит к селективному нацеленному воздействию, связыванию, повреждению, уничтожению и/или выведению из организма позвоночных вторгающихся патогенных микроорганизмов, клеток или тканей, инфицированных

возбудителями, злокачественными или другими патологическими клетками, или, в случае аутоиммунных заболеваний или патологического воспаления, нормальных человеческих клеток или тканей. Иммунная реакция включает, например, активацию или ингибирование Т-клетки, например, эффекторной Т-клетки, Th-клетки, $CD4^+$ клетки, $CD8^+$ Т-клетки или Treg-клетки, или активацию или ингибирование любой другой клетки иммунной системы, например, NK-клетки.

[0366] "Паттерн иммунного ответа" относится к клинической картине ответа, часто наблюдаемой у онкологических пациентов, подвергаемых лечению иммунотерапевтическими средствами, которые производят противоопухолевое действие, индуцируя специфические к злокачественной опухоли иммунные реакции или модифицируя нативные иммунные процессы. Такая картина ответа характеризуется полезным терапевтическим эффектом, который следует после первоначального увеличения опухолевой нагрузки или появления новых поражений, которые в оценке традиционных химиотерапевтических средств могут быть классифицированы как прогрессирование заболевания и будут синонимом отказа от лекарственных средств. Соответственно, правильная оценки иммунотерапевтических средств может потребовать долгосрочного мониторинга эффектов этих средств в отношении нацеленного воздействия на заболевание.

[0367] Как используется в настоящем документе, термин "стабильный", применительно к составу или лекарственному продукту, представляет собой состав или лекарственный продукт, в котором антитело, антитела или молекулы по существу сохраняют свою физическую и химическую стабильность и целостность при хранении. Стабильность композиции по настоящему изобретению может быть измерена при выбранных температурах через выбранные периоды времени. Например, увеличение образования агрегатов или низкомолекулярных веществ является показателем нестабильности. Сохранение первоначальной прозрачности и/или цвета в течение всего срока хранения также являются показателями, используемыми для контроля стабильности. В некоторых аспектах "стабильный" лекарственный продукт представляет собой продукт, в котором увеличение агрегации, измеряемое увеличением процентного содержания высокомолекулярных веществ (high molecular weight species (%HMW)), составляет менее 5% и предпочтительно менее 3%, когда состав хранится при температуре 2-8 ℃ в течение по меньшей мере одного года.

[0368] Термины "лечить", "осуществлять лечение" и "лечение", используемые в настоящем документе, относится к любому типу вмешательства или процесса,

выполняемых на, или введения активного средства субъекту с целью обращения вспять, облегчения, улучшения, препятствия, замедления или предотвращения возникновения прогрессирования, развития, тяжести или рецидива симптома, осложнения, состояния или биохимического показателя, связанного с заболеванием, или повышения общей выживаемости. Лечение может проводиться у субъекта, имеющего заболевание, или у субъекта, не имеющего заболевания (например, для профилактики).

[0369] Термины "приблизительно каждую неделю", "приблизительно каждые две недели" или любые другие подобные термины интервала дозирования, используемые в настоящем документе, означают приблизительные числа. "Приблизительно каждую неделю" может включать каждые семь дней ± один день, то есть от каждых шести дней до каждых восьми дней. "Приблизительно каждые две недели" может включать каждые четырнадцать дней ± три дня, то есть от каждых одиннадцати дней до каждых семнадцати дней. Аналогичные приближения применимы, например, к интервалам приблизительно каждые три недели, приблизительно каждые четыре недели, приблизительно каждые пять недель, приблизительно каждые шесть недель и приблизительно каждые двенадцать недель. В некоторых аспектах интервал дозирования приблизительно каждые шесть недель или приблизительно каждые двенадцать недель означает, что первая доза может быть введена в любой день на первой неделе и следующая доза может быть введена в любой день на шестой или двенадцатой неделе, соответственно. В других аспектах интервал дозирования приблизительно каждые шесть недель или приблизительно каждые двенадцать недель означает, что первая доза вводится в определенный день первой недели (например, в понедельник) и затем следующая доза вводится в тот же день шестой или двенадцатой недели (то есть в понедельник), соответственно. Когда для достижения дозы вводят несколько единичных доз для подкожного введения, интервал дозирования относится к периоду времени между введением первой подкожной дозы первой эффективной дозы и первой подкожной дозы второй эффективной дозы. Например, если способ включает введение дозы около 600 мг приблизительно каждые две недели, где доза антитела включает две единичные дозы для подкожного введения, где каждая из двух единичных доз для подкожного введения включает около 300 мг антитела, первая единичная доза для подкожного введения около 300 мг первой эффективной дозы антитела вводится в первый день и первая единичная доза для подкожного введения около 300 мг второй эффективной дозы антитела вводится

приблизительно на 14-й день. В данном примере вторая единичная доза около 300 мг первой эффективной дозы антитела может быть введена в день 1 или в любое другое время до введения первой подкожной единичной дозы около 300 мг второй эффективной дозы антитела.

[0370] Использование альтернативы (например, "или") следует понимать как означающее либо один, два, либо любую их комбинацию из альтернатив. Используемые в настоящем документе термины в форме единственного числа следует понимать как ссылку на один или несколько любого указанного или пронумерованного компонента.

[0371] Термины "приблизительно" или "состоящий по существу из" относятся к значению или композиции, которая находится в пределах приемлемого диапазона ошибок для конкретного значения или композиции, как определено любым специалистом в настоящей области техники, который будет зависеть отчасти от того, как значение или композиция измеряется или определяется, т.е. ограничений системы измерения. Например, "приблизительно" или "состоящий по существу из" может означать в одном или более одном стандартном отклонении в практике в настоящей области техники. Кроме того, приблизительно или содержащий по существу может означать диапазон до 20%. Кроме того, в частности, по отношению к биологическим системам и процессам термины могут означать вплоть до порядка величины или до 5-кратного значения. Когда конкретные значения или композиции предусмотрены в заявке и в формуле изобретения, если не указано иное, значение "приблизительно" или "состоящий по существу из" следует считать в пределах приемлемого диапазона ошибок для данного значения или композиции.

[0372] Как описано в настоящем документе, должно быть понятно, что любой диапазон концентраций, диапазон процентов, диапазон отношений или диапазон целого числа включает в себя значение любого целого числа в пределах указанного диапазона и, при необходимости, их фракции (например, одной десятой и одной сотой целого числа), если не указано иное.

[0373] Различные аспекты раскрытия изобретения более подробно описаны в следующих подразделах.

II. Композиции по изобретению

[0374] Некоторые аспекты настоящего раскрытия относятся к фармацевтическим композициям, включающим (i) антитело или его

антигенсвязывающий участок и (ii) по меньшей мере два антиоксиданта. В некоторых аспектах более одного антиоксиданта, например, два антиоксиданта, предотвращают окисление компонентов состава и/или улучшают стабильность антитела. В некоторых аспектах антитело или его антигенсвязывающий участок представляет собой ингибитор контрольной точки. В некоторых аспектах антитело или его антигенсвязывающий участок специфически связывает PD-1 ("анти-PD-1 антитело"). В некоторых аспектах фармацевтическая композиция предназначена для подкожного введения. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция дополнительно включает (iii) гидролазный фермент эндогликозидазу. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция не включает гидролазный фермент эндогликозидазу. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает по меньшей мере два антитела или их антигенсвязывающие участки.

[0375] Также в объем настоящего раскрытия входят фармацевтические композиции, включающие анти-PD-1 антитело или анти-PD-L1 антитело. В некоторых аспектах фармацевтические композиции составлены для подкожного введения в соответствии с раскрытым в настоящем документе способом. В некоторых аспектах фармацевтические композиции составлены таким образом, что они обладают улучшенными свойствами по сравнению с композициями без двух антиоксидантов или по меньшей мере одного антиоксиданта.

[0376] Терапевтические средства по настоящему изобретению могут быть представлены в виде композиции, например, фармацевтической композиции, содержащей антитело и фармацевтически приемлемый носитель. Как используется в настоящем документе, "фармацевтически приемлемый носитель" включает любые и все растворители, дисперсионные среды, покрытия, антибактериальные и противогрибковые продукта, изотонические и задерживающие всасывание продукта и тому подобное, которые являются физиологически совместимыми. Предпочтительно, носитель для композиции, содержащей антитело, подходит для внутривенного, внутримышечного, подкожного, парентерального, спинального или эпидермального введения (например, путем инъекции или инфузии), тогда как носитель для композиции, содержащей антитело и/или цитокин, подходит для непарентерального, например, перорального, введения.

[0377] В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает (i) антитело или его антигенсвязывающий участок (например, анти-PD-1 антитело), (ii) по меньшей мере два антиоксиданта, (iii) модификатор тоничности или стабилизатор,

(iv) буферный агент и (v) поверхностно-активное вещество. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает (i) антитело или его антигенсвязывающий участок (например, анти-PD-1 антитело), (ii) по меньшей мере два антиоксиданта, (iii) модификатор тоничности или стабилизатор, (iv) буферный агент, (v) поверхностно-активное вещество и (vi) гидролазный фермент эндогликозидазу. В некоторых аспектах антитело представляет собой биспецифическое антитело или мультиспецифическое антитело.

[0378] В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает (i) первое антитело или его антигенсвязывающий участок (например, анти-PD-1 антитело), (ii) по меньшей мере два антиоксиданта, (iii) модификатор тоничности или стабилизатор, (iv) буферный агент и (v) поверхностно-активное вещество. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает (i) антитело или его антигенсвязывающий участок (например, анти-PD-1 антитело), (ii) по меньшей мере два антиоксиданта, (iii) модификатор тоничности или стабилизатор, (iv) буферный агент, (v) поверхностно-активное вещество, (vi) второе антитело или его антигенсвязывающий участок, и (vii) гидролазный фермент эндогликозидазу. В некоторых аспектах первое антитело представляет собой биспецифическое антитело или мультиспецифическое антитело.

II.A. Антитела и антигенсвязывающие участки

[0379] В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает антитело или его антигенсвязывающий участок. Фармацевтические композиции, описанные в настоящем документе, могут включать любое антитело или его антигенсвязывающий участок. В некоторых аспектах антитело или его антигенсвязывающий участок представляет собой ингибитор контрольной точки. В некоторых аспектах антитело или антигенсвязывающая часть специфически связывает белок контрольной точки. В некоторых аспектах антитело или его антигенсвязывающий участок специфически связывает белок, выбранный из PD-1, PD-L1, CTLA-4, LAG-3, TIGIT, TIM3, NKG2a, OX40, ICOS, MICA, CD137, KIR, TGFβ, IL-10, IL-8, B7-H4, Fas-лиганда, CXCR4, мезотелина, CD27, GITR и любой их комбинации. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает анти-PD-1 антитело. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает анти-PD-L1 антитело. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает антитело анти-CTLA-4. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает анти-LAG-3 антитело. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает анти-

TIM3 антитело.

[0380] В некоторых аспектах антитело представляет собой мультиспецифическое антитело. В некоторых аспектах антитело представляет собой биспецифическое антитело. В некоторых аспектах антитело представляет собой триспецифическое антитело. В некоторых аспектах антитело специфически связывает (i) PD-1 и (ii) второй антиген. В некоторых аспектах антитело специфически связывает (i) PD-1, (ii) второй антиген и (iii) третий антиген. В некоторых аспектах антитело специфически связывает (i) PD-L1 и (ii) второй антиген. В некоторых аспектах антитело специфически связывает (i) PD-L1, (ii) второй антиген и (iii) третий антиген. В некоторых аспектах второй антиген и третий антиген одинаковы. В некоторых аспектах второй антиген и третий антиген различны. В некоторых аспектах второй антиген представляет собой CD3. В некоторых аспектах вторым антигеном является TIGIT. В некоторых аспектах вторым антигеном является LAG-3.

[0381] В некоторых аспектах антитело специфически связывает (i) TIGIT и (ii) ингибирующий рецептор, экспрессируемый на Т-клетках, NK-клетках или как на Т-клетках, так и на NK-клетках. В некоторых аспектах антитело специфически связывает (i) CD40 и (ii) CD20. В некоторых аспектах антитело специфически связывает (i) PD-1 и (ii) TIGIT. В некоторых аспектах антитело специфически связывает (i) PD-1 и (ii) LAG-3.

[0382] В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает от по меньшей мере около 10 мг/мл до по меньшей мере около 500 мг/мл антитела (например, анти-PD-1 или анти-PD-L1 антитела). В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает от по меньшей мере около 10 мг/мл до по меньшей мере около 500 мг/мл, от по меньшей мере около 10 мг/мл до по меньшей мере около 400 мг/мл, от по меньшей мере около 10 мг/мл до по меньшей мере около 300 мг/мл, от по меньшей мере около 10 мг/мл до по меньшей мере около 250 мг/мл, от по меньшей мере около 10 мг/мл до по меньшей мере около 200 мг/мл, от по меньшей мере около 10 мг/мл до по меньшей мере около 190 мг/мл, от по меньшей мере около 10 мг/мл до по меньшей мере около 180 мг/мл, от по меньшей мере около 10 мг/мл до по меньшей мере около 170 мг/мл, от по меньшей мере около 10 мг/мл до по меньшей мере около 160 мг/мл, от по меньшей мере около 10 мг/мл до по меньшей мере около 150 мг/мл, от по меньшей мере около 20 мг/мл до по меньшей мере около 500 мг/мл, от по меньшей мере около 20 мг/мл до по меньшей мере около 400 мг/мл, от по меньшей мере около 20 мг/мл до по меньшей мере около 300 мг/мл, от по

меньшей мере около 20 мг/мл до по меньшей мере около 250 мг/мл, от по меньшей мере около 20 мг/мл до по меньшей мере около 200 мг/мл, от по меньшей мере около 20 мг/мл до по меньшей мере около 190 мг/мл, от по меньшей мере около 20 мг/мл до по меньшей мере около 180 мг/мл, от по меньшей мере около 20 мг/мл до по меньшей мере около 170 мг/мл, от по меньшей мере около 20 мг/мл до по меньшей мере около 160 мг/мл, от по меньшей мере около 20 мг/мл до по меньшей мере около 150 мг/мл, от по меньшей мере около 50 мг/мл до по меньшей мере около 200 мг/мл, от по меньшей мере около 100 мг/мл до по меньшей мере около 200 мг/мл, от по меньшей мере около 150 мг/мл до по меньшей мере около 200 мг/мл, от по меньшей мере около 135 мг/мл до по меньшей мере около 180 мг/мл, от по меньшей мере около 100 мг/мл до по меньшей мере около 200 мг/мл, от по меньшей мере около 150 мг/мл до по меньшей мере около 200 мг/мл, от по меньшей мере около 100 мг/мл до по меньшей мере около 130 мг/мл или от по меньшей мере около 108 мг/мл до по меньшей мере около 132 мг/мл антитела (например, анти-PD-1 или анти-PD-L1 антитело). В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает по меньшей мере около 50 мг/мл антитела (например, анти-PD-1 или анти-PD-L1 антитела). В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает по меньшей мере около 60 мг/мл антитела (например, анти-PD-1 или анти-PD-L1 антитела). В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает по меньшей мере около 70 мг/мл антитела (например, анти-PD-1 или анти-PD-L1 антитела). В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает по меньшей мере около 75 мг/мл антитела (например, анти-PD-1 или анти-PD-L1 антитела). В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает по меньшей мере около 80 мг/мл антитела (например, анти-PD-1 или анти-PD-L1 антитела). В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает по меньшей мере около 90 мг/мл антитела (например, анти-PD-1 или анти-PD-L1 антитела). В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает по меньшей мере около 100 мг/мл антитела (например, анти-PD-1 или анти-PD-L1 антитела). В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает по меньшей мере около 108 мг/мл антитела (например, анти-PD-1 или анти-PD-L1 антитела). В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает по меньшей мере около 110 мг/мл антитела (например, анти-PD-1 или анти-PD-L1 антитела). В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает по меньшей мере около 120 мг/мл антитела (например, анти-PD-1 или анти-PD-L1 антитела). В некоторых аспектах

фармацевтическая композиция включает по меньшей мере около 130 мг/мл антитела (например, анти-PD-1 или анти-PD-L1 антитела). В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает по меньшей мере около 132 мг/мл антитела (например, анти-PD-1 или анти-PD-L1 антитела). В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает по меньшей мере около 135 мг/мл антитела (например, анти-PD-1 или анти-PD-L1 антитела). В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает по меньшей мере около 140 мг/мл антитела (например, анти-PD-1 или анти-PD-L1 антитела). В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает по меньшей мере около 150 мг/мл антитела (например, анти-PD-1 или анти-PD-L1 антитела). В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает по меньшей мере около 160 мг/мл антитела (например, анти-PD-1 или анти-PD-L1 антитела). В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает по меньшей мере около 170 мг/мл антитела (например, анти-PD-1 или анти-PD-L1 антитела). В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает по меньшей мере около 175 мг/мл антитела (например, анти-PD-1 или анти-PD-L1 антитела). В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает по меньшей мере около 180 мг/мл антитела (например, анти-PD-1 или анти-PD-L1 антитела). В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает по меньшей мере около 190 мг/мл антитела (например, анти-PD-1 или анти-PD-L1 антитела). В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает по меньшей мере около 200 мг/мл антитела (например, анти-PD-1 или анти-PD-L1 антитела).

II.A.1 Анти-PD-1 антитела, применимые для изобретения

[0383] В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает антитело или его антигенсвязывающий участок, которая специфически связывает PD-1 ("анти-PD-1 антитело"). Любое анти-PD-1 антитело может быть использовано в описанных в настоящее время композициях и способах. Различные человеческие моноклональные антитела, которые специфически связываются с PD-1 с высокой аффинностью, раскрыты в патенте США № 8,008,449. Анти-PD-1 человеческие антитела, раскрытые в патенте США №. 8,008,449, обладают одной или несколькими из следующих характеристик: (a) связываются с PD-1 человека с K_D, составляющей 1 x 10^{-7} M или менее, как определено с помощью поверхностного плазмонного резонанса с использованием системы биосенсора Biacore; (b) по существу, не связываются с CD28, CTLA-4 или ICOS человека; (c) увеличивают пролиферацию Т-клеток в анализе

смешанной реакции лимфоцитов (MLR); (d) увеличивают выработку интерферона-γ в анализе MLR; (e) увеличивают секрецию IL-2 в анализе MLR; (f) связываются с PD-1 человека и PD-1 яванской макаки; (g) ингибируют связывание PD-L1 и/или PD-L2 с PD-1; (h) стимулируют антигенспецифические ответы памяти; (i) стимулируют ответы антител; и (j) ингибируют рост опухолевых клеток *in vivo*. Антитела к PD-1 согласно настоящему изобретению включают моноклональные антитела, которые специфически связываются с PD-1 человека и обладают по меньшей мере одной, предпочтительно по меньшей мере пятью из предыдущих характеристик.

[0384] Другие анти-PD-1 моноклональные антитела описаны, например, в патентах США №№ 6,808,710, 7,488,802, 8,168,757 и 8,354,509, публикации США № 2016/0272708 и публикациях PCT №№ WO 2012/145493, WO 2008/156712, WO 2015/112900, WO 2012/145493, WO 2015/112800, WO 2014/206107, WO 2015/35606, WO 2015/085847, WO 2014/179664, WO 2017/020291, WO 2017/020858, WO 2016/197367, WO 2017/024515, WO 2017/025051, WO 2017/123557, WO 2016/106159, WO 2014/194302, WO 2017/040790, WO 2017/133540, WO 2017/132827, WO 2017/024465, WO 2017/025016, WO 2017/106061, WO 2017/19846, WO 2017/024465, WO 2017/025016, WO 2017/132825 и WO 2017/133540, каждая из которых полностью включена в настоящий документ.

[0385] В некоторых аспектах анти-PD-1 антитело выбрано из группы, состоящей из ниволумаба (также известного как OPDIVO®, 5C4, BMS-936558, MDX-1106 и ONO-4538), пембролизумаба (Merck; также известного как KEYTREДDA®, ламбролизумаб и MK-3475; *см.* WO2008/156712), PDR001 (Novartis; *см.* WO 2015/112900), MEDI-0680 (AstraZeneca; также известен как AMP-514; *см.* WO 2012/145493), цемиплимаба (Regeneron; также известен как REGN-2810; *см.* WO 2015/112800), JS001 (TAIZHOEД JEДNSHI PHARMA; также известен как торипалимаб; *см.* Si-Yang Liu et al., *J. Hematol. Oncol. 10*:136 (2017)), BGB-A317 (Beigene; также известен как тислелизумаб; *см.* WO 2015/35606 и US 2015/0079109), INCSHR1210 (Jiangsu Hengrui Medicine; также известен как SHR-1210; *см.* WO 2015/085847; Si-Yang Liu et al., *J. Hematol. Oncol. 10*:136 (2017)), TSR-042 (Tesaro Biopharmaceutical; также известен как ANB011; *см.* WO2014/179664), GLS-010 (Wuxi/Harbin Gloria Pharmaceuticals; также известен как WBP3055; *см.* Si-Yang Liu et al., *J. Hematol. Oncol. 10*:136 (2017)), AM-0001 (Armo), STI-1110 (Sorrento Therapeutics; *см.* WO 2014/194302), AGEN2034 (Agenus; *см.* WO 2017/040790), MGA012 (Macrogenics, *см.* WO 2017/19846), BCD-100 (Biocad; Kaplon et al., *mAbs 10(2)*:183-203

(2018), IBI308 (Innovent; *см.* WO 2017/024465, WO 2017/025016, WO 2017/132825 и WO 2017/133540); и сасанлимаб (PF-06801591).

[0386] В одном аспекте анти-PD-1 антитело представляет собой ниволумаб. Ниволумаб представляет собой полностью человеческое антитело IgG4 (S228P) против ингибитора иммунной контрольной точки PD-1, которое селективно предотвращает взаимодействие с лигандами PD-1 (PD-L1 и PD-L2), тем самым блокируя понижающую регуляцию функций противоопухолевых Т-клеток (патент США № 8,008,449; Wang et al., 2014 *Cancer Immunol Res. 2(9)*:846-56). Вариабельные области тяжелой цепи и легкой цепи для ниволумаба показаны в таблице 1A (SEQ ID NO: 2 и 3). В некоторых аспектах анти-PD-1 антитело включает вариабельную область тяжелой цепи, состоящую из аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 2, и вариабельную область легкой цепи, состоящую из аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 3. В некоторых аспектах антитело включает в себя последовательности определяющей комплементарность области (CDR) 1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи, включающие аминокислотные последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи из SEQ ID NO: 2. В некоторых аспектах антитело включает в себя последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи, включающие аминокислотные последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи из SEQ ID NO: 3.

Таблица 1A: Последовательности анти-PD-1 антител

Анти-PD-1 антитело Вариабельная область тяжелой цепи	QVQLVESGGG VVQPGRSLRL DCKASGITFS NSGMHWVRQA PGKGLEWVAV IWYDGSKRYY ADSVKGRFTI SRDNSKNTLF LQMNSLRAED TAVYYCATND DYWGQGTLVT VSS (SEQ ID NO: 2)
Анти-PD-1 антитело Вариабельная область легкой цепи	EIVLTQSPAT LSLSPGERAT LSCRASQSVS SYLAWYQQKP GQAPRLLIYD ASNRATGIPA RFSGSGSGTD FTLTISSLEP EDFAVYYCQQ SSNWPRTFGQ GTKVEIK (SEQ ID NO: 3)

[0387] В другом аспекте анти-PD-1 антитело представляет собой пембролизумаб. Пембролизумаб представляет собой гуманизированное моноклональное антитело IgG4 (S228P), направленное против человеческого рецептора клеточной поверхности PD-1 (программируемая смерть-1 или

программируемая клеточная смерть-1). Пембролизумаб описан, например, в патентах США №№ 8,354,509 и 8,900,587.

[0388] В другом аспекте анти-PD-1 антитело представляет собой сасанлимаб.

[0389] Анти-PD-1 антитела, применяемые в раскрытых композициях и способах, также включают выделенные антитела, которые специфически связываются с PD-1 человека и конкурируют за связывание с PD-1 человека с любым анти-PD-1 антителом, раскрытым в настоящем документе, например, ниволумабом (см., например, патенты США № 8,008,449 и 8,779,105; WO 2013/173223). В некоторых аспектах анти-PD-1 антитело связывает тот же эпитоп, что и любое из описанных в данном документе анти-PD-1 антител, например, ниволумаб. Способность антител перекрестно конкурировать за связывание с антигеном указывает на то, что эти антитела связываются с той же областью эпитопа антигена и стерически препятствуют связыванию других перекрестно конкурирующих антител с данной определенной эпитопной областью. Ожидается, что данные перекрестно конкурирующие антитела будут иметь функциональные свойства, очень похожие на свойства эталонного антитела, например, ниволумаба, в силу их связывания с той же эпитопной областью PD-1. Перекрестно конкурирующие антитела могут быть легко идентифицированы на основе их способности перекрестно конкурировать с ниволумабом в стандартных анализах связывания PD-1, таких как анализ Biacore, иммуноферментный анализ (ИФА, англ. enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA) или проточная цитометрия (см., например, WO 2013/173223).

[0390] В определенных аспектах антитела, которые перекрестно конкурируют за связывание с PD-1 человека или связываются с той же областью эпитопа PD-1 человека, как ниволумаб, или связываются с ней, являются моноклональными антителами. Для введения пациентам-людям данные перекрестно конкурирующие антитела представляют собой химерные антитела, сконструированные антитела, гуманизированные или человеческие антитела. Такие химерные, сконструированные, гуманизированные или человеческие моноклональные антитела могут быть получены и выделены способами, хорошо известными в данной области техники.

[0391] Антитело к PD-1, применяемые в композициях и способах раскрытого изобретения, также включают в себя антигенсвязывающие участки вышеуказанных антител. Было убедительно показано, что антигенсвязывающая функция антитела может быть осуществлена фрагментами полноразмерного антитела.

[0392] Анти-PD-1 антитела, подходящие для применения в раскрытых

композициях и способах, представляют собой антитела, которые связываются с PD-1 с высокой специфичностью и аффинностью, блокируют связывание PD-L1 и или PD-L2 и ингибируют иммуносупрессивный эффект сигнального пути PD-1. В любой из композиций или способов, раскрытых в настоящем документе, анти-PD-1 "антитело" включает в себя антигенсвязывающий участок или фрагмент, который связывается с рецептором PD-1 и проявляет функциональные свойства, аналогичные свойствам целых антител в ингибировании связывания лиганда и повышении регуляции иммунной системы. В некоторых аспектах анти-PD-1 антитело или его антигенсвязывающий участок перекрестно конкурирует с ниволумабом за связывание с PD-1 человека.

[0393] В некоторых аспектах анти-PD-1 антитело вводится в дозе от 0,1 мг/кг до 20,0 мг/кг массы тела один раз в 2, 3, 4, 5, 6, 7 или 8 недель, например, от 0,1 мг/кг до 10,0 мг/кг массы тела один раз в 2, 3 или 4 недели. В других аспектах анти-PD-1 антитело вводится в дозе около 2 мг/кг, около 3 мг/кг, около 4 мг/кг, около 5 мг/кг, около 6 мг/кг, около 7 мг/кг, около 8 мг/кг, около 9 мг/кг или 10 мг/кг массы тела один раз в 2 недели. В других аспектах анти-PD-1 антитело вводится в дозе около 2 мг/кг, около 3 мг/кг, около 4 мг/кг, около 5 мг/кг, около 6 мг/кг, около 7 мг/кг, около 8 мг/кг, около 9 мг/кг или 10 мг/кг массы тела один раз в 3 недели. В одном аспекте анти-PD-1 антитело вводится в дозе около 5 мг/кг массы тела приблизительно один раз в 3 недели. В другом аспекте анти-PD-1 антитело, например, ниволумаб, вводится в дозе около 3 мг/кг массы тела приблизительно один раз в 2 недели. В других аспектах анти-PD-1 антитело, например, пембролизумаб, назначается в дозе около 2 мг/кг массы тела приблизительно один раз в 3 недели.

[0394] Анти-PD-1 антитело, применимое для настоящего изобретения, может вводиться в виде фиксированной дозы. В некоторых аспектах анти-PD-1 антитело вводят в фиксированной дозе от около 100 до около 1000 мг, около 100 мг до около 900 мг, около 100 мг до около 800 мг, около 100 мг до около 700 мг, около 100 мг до около 600 мг, около 100 мг до около 500 мг, около 200 мг до около 1000 мг, около 200 мг до около 900 мг, около 200 мг до около 800 мг, около 200 мг до около 700 мг, около 200 мг до около 600 мг, около 200 мг до около 500 мг, около 200 мг до около 480 мг или от около 240 мг до около 480 мг. В одном аспекте анти-PD-1 антитело вводится в виде фиксированной дозы, составляющей по меньшей мере около 200 мг, по меньшей мере около 220 мг, по меньшей мере около 240 мг, по меньшей мере около 260 мг, по меньшей мере около 280 мг, по меньшей мере около 300 мг, по меньшей мере около

320 мг, по меньшей мере около 340 мг, по меньшей мере около 360 мг, по меньшей мере около 380 мг, по меньшей мере около 400 мг, по меньшей мере около 420 мг, по меньшей мере около 440 мг, по меньшей мере около 460 мг, по меньшей мере около 480 мг, по меньшей мере около 500 мг, по меньшей мере около 520 мг, по меньшей мере около 540 мг, по меньшей мере около 550 мг, по меньшей мере около 560 мг, по меньшей мере около 580 мг, по меньшей мере около 600 мг, по меньшей мере около 620 мг, по меньшей мере около 640 мг, по меньшей мере около 660 мг, по меньшей мере около 680 мг, по меньшей мере около 700 мг или по меньшей мере около 720 мг, с интервалом дозирования около 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 недель. В других аспектах анти-PD-1 антитело вводится в виде фиксированной дозы от около 200 мг до около 800 мг, около 200 мг до около 700 мг, около 200 мг до около 600 мг, около 200 мг до около 500 мг, с интервалом дозирования около 1, 2, 3 или 4 недель.

[0395] В некоторых аспектах анти-PD-1 антитело вводится в фиксированной дозе около 200 мг приблизительно один раз в 3 недели. В других аспектах анти-PD-1 антитело вводится в фиксированной дозе около 200 мг приблизительно один раз в 2 недели. В других аспектах анти-PD-1 антитело вводится в фиксированной дозе около 240 мг приблизительно один раз в 2 недели. В некоторых аспектах анти-PD-1 антитело вводится в фиксированной дозе около 480 мг приблизительно один раз в 4 недели.

[0396] В некоторых аспектах ниволумаб вводится в фиксированной дозе около 240 мг приблизительно один раз в 2 недели. В некоторых аспектах ниволумаб вводится в фиксированной дозе около 240 мг один раз приблизительно в 3 недели. В некоторых аспектах ниволумаб вводится в фиксированной дозе около 360 мг один раз приблизительно в 3 недели. В некоторых аспектах ниволумаб вводится в фиксированной дозе около 480 мг один раз приблизительно в 4 недели. В некоторых аспектах ниволумаб вводится в фиксированной дозе около 720 мг один раз приблизительно в 6 недель. В некоторых аспектах ниволумаб вводится в фиксированной дозе около 960 мг один раз приблизительно в 8 недель.

[0397] В некоторых аспектах пембролизумаб вводится в фиксированной дозе около 200 мг один раз приблизительно в 2 недели. В некоторых аспектах пембролизумаб вводится в фиксированной дозе около 200 мг один раз приблизительно в 3 недели. В некоторых аспектах пембролизумаб вводится в фиксированной дозе около 400 мг один раз приблизительно в 4 недели.

[0398] В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает от по меньшей мере около 10 мг/мл до по меньшей мере около 500 мг/мл анти-PD-1 антитела

(например, ниволумаба или пембролизумаба). В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает от по меньшей мере около 10 мг/мл до по меньшей мере около 500 мг/мл, от по меньшей мере около 10 мг/мл до по меньшей мере около 400 мг/мл, от по меньшей мере около 10 мг/мл до по меньшей мере около 300 мг/мл, от по меньшей мере около 10 мг/мл до по меньшей мере около 250 мг/мл, от по меньшей мере около 10 мг/мл до по меньшей мере около 200 мг/мл, от по меньшей мере около 10 мг/мл до по меньшей мере около 190 мг/мл, от по меньшей мере около 10 мг/мл до по меньшей мере около 180 мг/мл, от по меньшей мере около 10 мг/мл до по меньшей мере около 170 мг/мл, от по меньшей мере около 10 мг/мл до по меньшей мере около 160 мг/мл, от по меньшей мере около 10 мг/мл до по меньшей мере около 150 мг/мл, от по меньшей мере около 20 мг/мл до по меньшей мере около 500 мг/мл, от по меньшей мере около 20 мг/мл до по меньшей мере около 400 мг/мл, от по меньшей мере около 20 мг/мл до по меньшей мере около 300 мг/мл, от по меньшей мере около 20 мг/мл до по меньшей мере около 250 мг/мл, от по меньшей мере около 20 мг/мл до по меньшей мере около 200 мг/мл, от по меньшей мере около 20 мг/мл до по меньшей мере около 190 мг/мл, от по меньшей мере около 20 мг/мл до по меньшей мере около 180 мг/мл, от по меньшей мере около 20 мг/мл до по меньшей мере около 170 мг/мл, от по меньшей мере около 20 мг/мл до по меньшей мере около 160 мг/мл, от по меньшей мере около 20 мг/мл до по меньшей мере около 150 мг/мл, от по меньшей мере около 50 мг/мл до по меньшей мере около 200 мг/мл, от по меньшей мере около 100 мг/мл до по меньшей мере около 200 мг/мл, от по меньшей мере около 150 мг/мл до по меньшей мере около 200 мг/мл, от по меньшей мере около 135 мг/мл до по меньшей мере около 180 мг/мл, от по меньшей мере около 100 мг/мл до по меньшей мере около 200 мг/мл, от по меньшей мере около 150 мг/мл до по меньшей мере около 200 мг/мл, от по меньшей мере около 100 мг/мл до по меньшей мере около 130 мг/мл или по меньшей мере около 108 мг/мл до по меньшей мере около 132 мг/мл анти-PD-1 антитела (например, анти-PD-1 антитела (например, ниволумаба или пембролизумаба). В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает по меньшей мере около 50 мг/мл анти-PD-1 антитела (например, ниволумаба или пембролизумаба). В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает по меньшей мере около 60 мг/мл анти-PD-1 антитела (например, ниволумаба или пембролизумаба). В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает по меньшей мере около 70 мг/мл анти-PD-1 антитела (например, ниволумаба или пембролизумаба). В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает по

меньшей мере около 75 мг/мл анти-PD-1 антитела (например, ниволумаба или пембролизумаба). В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает по меньшей мере около 80 мг/мл анти-PD-1 антитела (например, ниволумаба или пембролизумаба). В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает по меньшей мере около 90 мг/мл анти-PD-1 антитела (например, ниволумаба или пембролизумаба). В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает по меньшей мере около 100 мг/мл анти-PD-1 антитела (например, ниволумаба или пембролизумаба). В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает по меньшей мере около 108 мг/мл анти-PD-1 антитела (например, ниволумаба или пембролизумаба). В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает по меньшей мере около 110 мг/мл анти-PD-1 антитела (например, ниволумаба или пембролизумаба). В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает по меньшей мере около 120 мг/мл анти-PD-1 антитела (например, ниволумаба или пембролизумаба). В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает по меньшей мере около 130 мг/мл анти-PD-1 антитела (например, ниволумаба или пембролизумаба). В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает по меньшей мере около 132 мг/мл анти-PD-1 антитела (например, ниволумаба или пембролизумаба). В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает по меньшей мере около 135 мг/мл анти-PD-1 антитела (например, ниволумаба или пембролизумаба). В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает по меньшей мере около 140 мг/мл анти-PD-1 антитела (например, ниволумаба или пембролизумаба). В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает по меньшей мере около 150 мг/мл анти-PD-1 антитела (например, ниволумаба или пембролизумаба). В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает по меньшей мере около 160 мг/мл анти-PD-1 антитела (например, ниволумаба или пембролизумаба). В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает по меньшей мере около 170 мг/мл анти-PD-1 антитела (например, ниволумаба или пембролизумаба). В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает по меньшей мере около 175 мг/мл анти-PD-1 антитела (например, ниволумаба или пембролизумаба). В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает по меньшей мере около 180 мг/мл анти-PD-1 антитела (например, ниволумаба или пембролизумаба). В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает по меньшей мере около 190 мг/мл анти-PD-1 антитела (например, ниволумаба или пембролизумаба). В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает по

меньшей мере около 200 мг/мл анти-PD-1 антитела (например, ниволумаба или пембролизумаба).

[0399] В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает биспецифическое антитело или мультиспецифическое антитело, включающее первый антигенсвязывающий мотив и второй антигенсвязывающий мотив, где первый антигенсвязывающий мотив включает анти-PD-1 антигенсвязывающий участок (например, scFv ниволумаба). В некоторых аспектах второй антигенсвязывающий мотив представляет собой антигенсвязывающий участок любого из антител, раскрытых в настоящем документе. В некоторых аспектах второй антигенсвязывающий мотив представляет собой антигенсвязывающий участок антитела против LAG-3, например, релатилимаба. В некоторых аспектах вторая антигенсвязывающая часть представляет собой антигенсвязывающий участок анти-TIGIT антитела.

[0400] В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает мультиспецифическое антитело, включающее первый антигенсвязывающий мотив, второй антигенсвязывающий мотив и по меньшей мере третий антигенсвязывающий мотив, где первый антигенсвязывающий мотив включает анти-PD-1 антигенсвязывающий участок (например, scFv ниволумаба).

II.A.2. Антитела к PD-L1, применимые для изобретения

[0401] В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает антитело или его антигенсвязывающий участок, которая специфически связывает PD-L1 ("анти-PD-L1 антитело"). В некоторых аспектах анти-PD-L1 антитело заменяет анти-PD-1 антитело в любой из композиций или способов, раскрытых в настоящем документе. В композициях и способах настоящего раскрытия могут быть использованы любые анти-PD-L1 антитела. Примеры анти-PD-L1 антител, применимых в композициях и способах настоящего раскрытия, включают антитела, раскрытые в патенте США № 9,580,507. Анти-PD-L1 человеческие моноклональные антитела, раскрытые в патенте США №. 9,580,507, демонстрируют одну или более из следующих характеристик: (a) связываются с PD-L1 человека с K_D, равной 1 x 10^{-7} M или менее, как определено с помощью поверхностного плазмонного резонанса с использованием системы биосенсора Biacore; (b) увеличивают пролиферацию Т-клеток в анализе смешанной реакции лимфоцитов (MLR); (c) увеличивают выработку интерферона-γ в анализе MLR; (d) увеличивают секрецию IL-2 в анализе MLR; (e)

стимулируют реакцию антител; и (f) обращают действие Т-регуляторных клеток на Т-клетки-эффекторы и/или дендритные клетки. Анти-PD-L1 антитела, используемые в настоящем раскрытии, включают моноклональные антитела, которые специфически связываются с PD-L1 человека и проявляют по меньшей мере одну, в некоторых аспектах по меньшей мере пять, из предшествующих характеристик.

[0402] В определенных аспектах анти-PD-L1 антитело выбрано из группы, состоящей из BMS-936559 (также известного как 12A4, MDX-1105; см., например, патент США № 7,943,743 и WO 2013/173223), атезолизумаба (Roche; также известен как TECENTRIQ®; MPDL3280A, RG7446; см. US 8,217,149; см. также, Herbst et al. (2013) J Clin Oncol 31(suppl):3000), дурвалумаб (AstraZeneca; также известен как IMFINZI™, MEDI-4736; см. WO 2011/066389), авелумаб (Pfizer; также известен как BAVENCIO®, MSB-0010718C; см. WO 2013/079174), STI-1014 (Sorrento; см. WO2013/181634), CX-072 (Cytomx; см. WO2016/149201), KN035 (3D Med/Alphamab; см. Zhang et al., Cell Discov. 7:3 (март 2017), LY3300054 (Eli Lilly Co.; см., например, WO 2017/034916), BGB-A333 (BeiGene; см. Desai et al., JCO 36 (15*suppl*):TPS3113 (2018)) и CK-301 (Checkpoint Therapeutics; см. Gorelik et al., AACR:Abstract 4606 (Apr 2016)).

[0403] В некоторых аспектах антитело к PD-L1 представляет собой атезолизумаб (TECENTRIQ®). Атезолизумаб представляет собой полностью гуманизированное IgG1 моноклональное анти-PD-L1 антитело.

[0404] В некоторых аспектах антитело к PD-L1 представляет собой дурвалумаб (IMFINZI™). Дурвалумаб представляет собой человеческое IgG1 каппа моноклональное анти-PD-L1 антитело.

[0405] В некоторых аспектах антитело к PD-L1 представляет собой авелумаб (BAVENCIO®). Авелумаб представляет собой человеческое IgG1 лямбда моноклональное анти-PD-L1 антитело.

[0406] Анти-PD-L1 антитела, используемые в раскрытых композициях и способах, также включают выделенные антитела, которые специфически связываются с PD-L1 человека и перекрестно конкурируют за связывание с PD-L1 человека с любым анти-PD-L1 антителом, раскрытым в настоящем документе, например, атезолизумабом, дурвалумабом и/или авелумабом. В некоторых аспектах анти-PD-L1 антитело связывает тот же эпитоп, что и любое из анти-PD-L1 антител, описанных в настоящем документе, например, атезолизумаб, дурвалумаб и/или авелумаб. Способность антител перекрестно конкурировать за связывание с антигеном

указывает на то, что эти антитела связываются с той же областью эпитопа антигена и стерически препятствуют связыванию других перекрестно конкурирующих антител с данной определенной эпитопной областью. Ожидается, что данные перекрестно конкурирующие антитела будут иметь функциональные свойства, очень похожие на свойства эталонного антитела, например, ниволумаба, в силу их связывания с той же эпитопной областью PD-L1. Перекрестно конкурирующие антитела могут быть легко идентифицированы на основе их способности перекрестно конкурировать с атезолизумабом и/или авелумабом в стандартных анализах связывания PD-L1, таких как анализ Biacore, анализы ELISA или проточная цитометрия (*см.*, например, WO 2013/173223).

[0407] В некоторых аспектах антитела, которые конкурируют за связывание с PD-L1 человека или связываются с той же эпитопной областью антитела PD-L1 человека, что и атезолизумаб, дурвалумаб и/или авелумаб, являются моноклональными антителами. Для введения пациентам-людям данные перекрестно конкурирующие антитела представляют собой химерные антитела, сконструированные антитела или гуманизированные или человеческие антитела. Такие химерные, сконструированные, гуманизированные или человеческие моноклональные антитела могут быть получены и выделены способами, хорошо известными в данной области техники.

[0408] Анти-PD-L1 антитела, используемые в композициях и способах раскрытого раскрытия, также включают антигенсвязывающие участки вышеуказанных антител. Было убедительно продемонстрировано, что антигенсвязывающая функция антитела может выполняться фрагментами полноразмерного антитела.

[0409] Анти-PD-L1 антитела, подходящие для применения в раскрытых композициях и способах, представляют собой антитела, которые связываются с PD-L1 с высокой специфичностью и аффинностью, блокируют связывание PD-1 и ингибируют иммуносупрессивный эффект сигнального пути PD-1. В любой из композиций или способов, раскрытых в настоящем документе, анти-PD-L1 "антитело" включает антигенсвязывающий участок или фрагмент, который связывается с PD-L1 и проявляет функциональные свойства, аналогичные свойствам целых антител, ингибируя связывание рецептора и повышая регуляцию иммунной системы. В некоторых аспектах анти-PD-L1 антитело или его антигенсвязывающий участок перекрестно конкурирует с атезолизумабом, дурвалумабом и/или авелумабом за

связывание с PD-L1 человека.

[0410] Анти-PD-L1 антитело, применимое для настоящего раскрытия, может быть любым PD-L1 антителом, которое специфически связывается с PD-L1, например, антителом, которое перекрестно конкурирует с дурвалумабом, авелумабом или атезолизумабом за связывание с PD-1 человека, например, антителом, которое связывается с тем же эпитопом, что и дурвалумаб, авелумаб или атезолизумаб. В конкретном аспекте анти-PD-L1 антитело представляет собой дурвалумаб. В других аспектах анти-PD-L1 антитело представляет собой авелумаб. В некоторых аспектах антитело к PD-L1 представляет собой атезолизумаб.

[0411] В некоторых аспектах анти-PD-L1 антитело вводят в дозе от около 0,1 мг/кг до около 20,0 мг/кг массы тела, около 2 мг/кг, около 3 мг/кг, около 4 мг/кг, около 5 мг/кг, около 6 мг/кг, около 7 мг/кг, около 8 мг/кг, около 9 мг/кг, около 10 мг/кг, около 11 мг/кг, около 12 мг/кг, около 13 мг/кг, около 14 мг/кг, около 15 мг/кг, около 16 мг/кг, около 17 мг/кг, около 18 мг/кг, около 19 мг/кг или около 20 мг/кг, приблизительно один раз в 2, 3, 4, 5, 6, 7 или 8 недель.

[0412] В некоторых аспектах анти-PD-L1 антитело вводится в дозе около 15 мг/кг массы тела приблизительно один раз в 3 недели. В других аспектах анти-PD-L1 антитело вводится в дозе около 10 мг/кг массы тела приблизительно один раз в 2 недели.

[0413] В других аспектах анти-PD-L1 антитело, применимое для настоящего раскрытия, представляет собой фиксированную дозу. В некоторых аспектах анти-PD-L1 антитело вводится в виде фиксированной дозы от около 200 мг до около 1600 мг, около 200 мг до около 1500 мг, около 200 мг до около 1400 мг, около 200 мг до около 1300 мг, около 200 мг до около 1200 мг, около 200 мг до около 1100 мг, около 200 мг до около 1000 мг, около 200 мг до около 900 мг, около 200 мг до около 800 мг, около 200 мг до около 700 мг, около 200 мг до около 600 мг, около 700 мг до около 1300 мг, около 800 мг до около 1200 мг, около 700 мг до около 900 мг или от около 1100 мг до около 1300 мг. В некоторых аспектах антитело анти-PD-L1 вводится в виде фиксированной дозы, составляющей по меньшей мере около 240 мг, по меньшей мере около 300 мг, по меньшей мере около 320 мг, по меньшей мере около 400 мг, по меньшей мере около 480 мг, по меньшей мере около 500 мг, по меньшей мере около 560 мг, по меньшей мере около 600 мг, по меньшей мере около 640 мг, по меньшей мере около 700 мг, по меньшей мере около 720 мг, по меньшей мере около 800 мг, по меньшей мере около 840 мг, по меньшей мере около 880 мг, по меньшей мере около

900 мг, по меньшей мере около 960 мг, по меньшей мере около 1000 мг, по меньшей мере около 1040 мг, по меньшей мере около 1100 мг, по меньшей мере около 1120 мг, по меньшей мере около 1200 мг, по меньшей мере около 1280 мг, по меньшей мере около 1300 мг, по меньшей мере около 1360 мг или по меньшей мере около 1400 мг, с интервалом дозирования около 1, 2, 3 или 4 недель. В некоторых аспектах анти-PD-L1 антитело вводится в виде фиксированной дозы около 1200 мг приблизительно один раз в 3 недели. В других аспектах анти-PD-L1 антитело вводится в фиксированной дозе около 800 мг приблизительно один раз в 2 недели. В других аспектах анти-PD-L1 антитело вводится в фиксированной дозе около 840 мг приблизительно один раз в 2 недели.

[0414] В некоторых аспектах атезолизумаб назначается в фиксированной дозе около 1200 мг один раз приблизительно в 3 недели. В некоторых аспектах атезолизумаб вводится в фиксированной дозе около 800 мг один раз приблизительно в 2 недели. В некоторых аспектах атезолизумаб вводится в фиксированной дозе около 840 мг один раз приблизительно в 2 недели.

[0415] В некоторых аспектах авелумаб вводится в фиксированной дозе около 800 мг один раз приблизительно в 2 недели.

[0416] В некоторых аспектах дурвалумаб вводится в дозе около 10 мг/кг один раз приблизительно в 2 недели. В некоторых аспектах дурвалумаб вводится в фиксированной дозе около 800 мг/кг один раз приблизительно в 2 недели. В некоторых аспектах дурвалумаб вводится в фиксированной дозе около 1200 мг/кг один раз приблизительно в 3 недели.

[0417] В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает от по меньшей мере около 10 мг/мл до по меньшей мере около 500 мг/мл анти-PD-L1 антитела. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает от по меньшей мере около 10 мг/мл до по меньшей мере около 500 мг/мл, от по меньшей мере около 10 мг/мл до по меньшей мере около 400 мг/мл, от по меньшей мере около 10 мг/мл до по меньшей мере около 300 мг/мл, от по меньшей мере около 10 мг/мл до по меньшей мере около 250 мг/мл, от по меньшей мере около 10 мг/мл до по меньшей мере около 200 мг/мл, от по меньшей мере около 10 мг/мл до по меньшей мере около 190 мг/мл, от по меньшей мере около 10 мг/мл по меньшей мере около 180 мг/мл, от по меньшей мере около 10 мг/мл по меньшей мере около 170 мг/мл, от по меньшей мере около 10 мг/мл по меньшей мере около 160 мг/мл, от по меньшей мере около 10 мг/мл по меньшей мере около 150 мг/мл, от по меньшей мере около 20 мг/мл по

меньшей мере около 500 мг/мл, от по меньшей мере около 20 мг/мл по меньшей мере около 400 мг/мл, от по меньшей мере около 20 мг/мл по меньшей мере около 300 мг/мл, от по меньшей мере около 20 мг/мл по меньшей мере около 250 мг/мл, от по меньшей мере около 20 мг/мл по меньшей мере около 200 мг/мл, от по меньшей мере около 20 мг/мл по меньшей мере около 190 мг/мл, от по меньшей мере около 20 мг/мл по меньшей мере около 180 мг/мл, от по меньшей мере около 20 мг/мл по меньшей мере около 170 мг/мл, от по меньшей мере около 20 мг/мл по меньшей мере около 160 мг/мл, от по меньшей мере около 20 мг/мл по меньшей мере около 150 мг/мл, от по меньшей мере около 50 мг/мл до по меньшей мере около 200 мг/мл, от по меньшей мере около 100 мг/мл до по меньшей мере около 200 мг/мл, от по меньшей мере около 150 мг/мл до по меньшей мере около 200 мг/мл, от по меньшей мере около 135 мг/мл до по меньшей мере около 180 мг/мл, от по меньшей мере около 100 мг/мл до по меньшей мере около 200 мг/мл, от по меньшей мере около 150 мг/мл до по меньшей мере около 200 мг/мл, от по меньшей мере около 100 мг/мл до по меньшей мере около 130 мг/мл или от по меньшей мере около 108 мг/мл до по меньшей мере около 132 мг/мл антитела анти-PD-L1. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает по меньшей мере около 50 мг/мл антитела анти-PD-L1. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает по меньшей мере около 60 мг/мл антитела анти-PD-L1. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает по меньшей мере около 70 мг/мл антитела анти-PD-L1. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает по меньшей мере около 75 мг/мл анти-PD-L1 антитела. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает по меньшей мере около 80 мг/мл антитела анти-PD-L1. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает по меньшей мере около 90 мг/мл антитела анти-PD-L1. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает по меньшей мере около 100 мг/мл анти-PD-L1 антитела. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает по меньшей мере около 108 мг/мл антитела анти-PD-L1. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает по меньшей мере около 110 мг/мл анти-PD-L1 антитела. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает по меньшей мере около 120 мг/мл антитела анти-PD-L1. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает по меньшей мере около 130 мг/мл антитела анти-PD-L1. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает по меньшей мере около 132 мг/мл антитела анти-PD-L1. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает по меньшей мере около 135 мг/мл антитела

анти-PD-L1. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает по меньшей мере около 140 мг/мл антитела анти-PD-L1. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает по меньшей мере около 150 мг/мл антитела анти-PD-L1. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает по меньшей мере около 160 мг/мл антитела анти-PD-L1. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает по меньшей мере около 170 мг/мл антитела анти-PD-L1. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает по меньшей мере около 175 мг/мл антитела анти-PD-L1. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает по меньшей мере около 180 мг/мл анти-PD-L1 антитела. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает по меньшей мере около 190 мг/мл антитела анти-PD-L1. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает по меньшей мере около 200 мг/мл антитела анти-PD-L1.

[0418] В некоторых аспектах антитело представляет собой мультиспецифическое антитело, например, биспецифическое антитело, которое специфично к (i) PD-L1 и (ii) второму антигену. В некоторых аспектах антитело представляет собой мультиспецифическое антитело, например, биспецифическое антитело, которое специфично к (i) PD-L1 и (ii) CD3.

II.A.3. Анти-CTLA-4 антитела

[0419] В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает антитело или его антигенсвязывающий участок, которая специфически связывает CTLA-4 ("анти-CTLA-4 антитело"). Любые антитела к CTLA-4, известные в данной области техники, могут быть использованы в композициях и способах настоящего раскрытия. Антитела к CTLA-4 по настоящему изобретению связываются с CTLA-4 человека таким образом, чтобы нарушить взаимодействие CTLA-4 с рецептором B7 человека. Поскольку взаимодействие CTLA-4 с B7 передает сигнал, ведущий к инактивации Т-клеток, несущих рецептор CTLA-4, нарушение взаимодействия эффективно индуцирует, усиливает или продлевает активацию таких Т-клеток, тем самым вызывая, усиливая или продлевая иммунный ответ.

[0420] Человеческие моноклональные антитела, которые специфически связываются с CTLA-4 с высокой аффинностью, раскрыты в патенте США № 6,984,720. Другие анти-CTLA-4 моноклональные антитела описаны, например, в патентах США №№ 5,977,318, 6,051,227, 6,682,736 и 7,034,121 и международных публикациях №№ WO 2012/122444, WO 2007/113648, WO 2016/196237 и WO

2000/037504, каждая из которых включена в настоящий документ посредством ссылки во всей своей полноте. Анти-CTLA-4 человеческие моноклональные антитела, раскрытые в патенте США №№ 6,984,720, продемонстрировали одну или несколько из следующих характеристик: (a) специфически связывается с CTLA-4 человека с аффинностью связывания, отраженной равновесной константой ассоциации (K_a), составляющей по меньшей мере около 10^7 M^{-1}, или около 10^9 M^{-1}, или от около 10^{10} M^{-1} до 10^{11} M^{-1} или выше, как определено анализом Biacore; (b) кинетической константой ассоциации (K_a), составляющей по меньшей мере около 10^3, около 10^4 или около 10^5 $м^{-1}$ $с^{-1}$; (c) кинетической константой диссоциации (k_d) по меньшей мере около 10^3, около 10^4 или около 10^5 $м^{-1}$ $с^{-1}$; и (d) ингибирует связывание CTLA-4 с B7-1 (CD80) и B7-2 (CD86). Антитела к CTLA-4, применимые для настоящего изобретения, включают моноклональные антитела, которые специфически связываются с человеческим CTLA-4 и проявляют по меньшей мере одну, по меньшей мере две или по меньшей мере три из предыдущих характеристик.

[0421] В определенных аспектах антитело CTLA-4 выбрано из группы, состоящей из ипилимумаба (также известного как YERVOY®, MDX-010, 10D1; *см.* патент США № 6,984,720), MK-1308 (Merck), AGEN-1884 (Agenus Inc.; *см.* WO 2016/196237) и тремелимумаба (AstraZeneca; также известного как тицилимумаб, CP-675,206; *см.* WO 2000/037504 и Ribas, *Update Cancer Ther. 2(3)*: 133-39 (2007)). В конкретных аспектах анти-CTLA-4 антитело представляет собой ипилимумаб.

[0422] В конкретных аспектах антитело CTLA-4 представляет собой ипилимумаб для применения в композициях и способах, раскрытых в настоящем документе. Ипилимумаб представляет собой полностью человеческое моноклональное антитело IgG1, которое блокирует связывание CTLA-4 с его лигандами B7, тем самым стимулируя активацию Т-клеток и улучшая общую выживаемость (ОВ) у пациентов с распространенной меланомой.

[0423] В конкретных аспектах антитело к CTLA-4 представляет собой тремелимумаб. В конкретных аспектах антитело к CTLA-4 представляет собой MK-1308. В конкретных аспектах антитело к CTLA-4 представляет собой AGEN-1884.

[0424] В некоторых аспектах антитело к CTLA-4 является нефукозилированным или гипофукозилированным. В некоторых аспектах антитело к CTLA-4 проявляет повышенную активность ADCC и/или ADCP. В некоторых аспектах антитело к CTLA-4 представляет собой BMS-986218, как описано в PCT/US18/19868.

[0425] Антитела к CTLA-4, используемые в раскрытых композициях и способах, также включают выделенные антитела, которые специфически связываются с CTLA-4 человека и конкурируют за связывание с CTLA-4 человека с любым антителом против CTLA-4, раскрытым в настоящем документе, например, ипилимумабом и/или тремелимумабом. В некоторых аспектах антитело к CTLA-4 связывает тот же эпитоп, что и любое из антител против CTLA-4, описанных в настоящем документе, например, ипилимумаб и/или тремелимумаб. Способность антител перекрестно конкурировать за связывание с антигеном указывает на то, что эти антитела связываются с той же областью эпитопа антигена и стерически препятствуют связыванию других перекрестно конкурирующих антител с данной определенной эпитопной областью. Ожидается, что данные перекрестно конкурирующие антитела будут иметь функциональные свойства, очень похожие на свойства эталонного антитела, например, ниволумаба, в силу их связывания с той же эпитопной областьюCTLA-4. Перекрестно конкурирующие антитела могут быть легко идентифицированы на основе их способности перекрестно конкурировать с ипилимумабом и/или тремелимумабом в стандартных анализах связывания CTLA-4, таких как анализ Biacore, анализы ELISA или проточная цитометрия (см., например, WO 2013/173223).

[0426] В некоторых аспектах антитела, которые конкурируют за связывание с CTLA-4 человека или связываются с той же эпитопной областью антитела CTLA-4 человека, что и ипилимумаб и/или тремелимумаб, являются моноклональными антителами. Для введения субъектам-людям данные перекрестно конкурирующие антитела представляют собой химерные антитела, сконструированные антитела, гуманизированные или человеческие антитела. Такие химерные, сконструированные, гуманизированные или человеческие моноклональные антитела могут быть получены и выделены способами, хорошо известными в данной области техники.

[0427] Анти-CTLA-4 антитела, используемые в композициях и способах по раскрытому изобретению, также включают антигенсвязывающие участки вышеуказанных антител. Было убедительно продемонстрировано, что антигенсвязывающая функция антитела может выполняться фрагментами полноразмерного антитела.

[0428] В определенных аспектах фармацевтическая композиция включает: (a) анти-CTLA-4 антитело ; (b) около 20 мМ гистидина; (c) около 250 мМ сахарозы; (d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80; (e) около 50 мкМ пентетовой кислоты; и (f)

около 5 мМ метионина. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает: (a) анти-CTLA-4 антитело; (b) около 20 мМ гистидина; (c) около 250 мМ сахарозы; (d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80; (e) около 50 мкМ пентетовой кислоты; (f) около 5 мМ метионина; и (g) около 2000 Ед/мл rHuPH20.

[0429] В некоторых аспектах анти-CTLA-4 антитело может быть составлено вместе с анти-PD-1-антителом в любом из составов, раскрытых в настоящем документе, как единый состав. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает: (a) около 150 мг/мл анти-PD-1 антитела; (b) около 20 мМ гистидина; (c) около 250 мМ сахарозы; (d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80; (e) около 50 мкМ пентетовой кислоты; (f) около 5 мМ метионина; и (g) анти-CTLA-4 антитело. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает: (a) около 150 мг/мл анти-PD-1 антитела; (b) около 20 мМ гистидина; (c) около 250 мМ сахарозы; (d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80; (e) около 50 мкМ пентетовой кислоты; (f) около 5 мМ метионина; (g) антитело анти-CTLA-4; и (h) около 2000 Ед/мл rHuPH20.

[0430] В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает: (a) около 150 мг/мл ниволумаба; (b) около 20 мМ гистидина; (c) около 250 мМ сахарозы; (d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80; (e) около 50 мкМ пентетовой кислоты; (f) около 5 мМ метионина; и (g) анти-CTLA-4 антитело. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает: (a) около 150 мг/мл ниволумаба; (b) около 20 мМ гистидина; (c) около 250 мМ сахарозы; (d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80; (e) около 50 мкМ пентетовой кислоты; (f) около 5 мМ метионина; (g) антитело анти-CTLA-4; и (h) около 2000 Ед/мл rHuPH20.

[0431] Анти-CTLA-4 антитела, подходящие для применения в раскрытых способах или композициях, представляют собой антитела, которые связываются с CTLA-4 с высокой специфичностью и аффинностью, блокируют активность CTLA-4 и нарушают взаимодействие CTLA-4 с рецептором B7 человека. В любой из композиций или способов, раскрытых в настоящем документе, анти-CTLA-4 "антитело" включает антигенсвязывающий участок или фрагмент, который связывается с CTLA-4 и проявляет функциональные свойства, аналогичные свойствам целых антител, в ингибировании взаимодействия CTLA-4 с рецептором B7 человека и повышении регуляции иммунной системы. В некоторых аспектах антитело к CTLA-4 или его антигенсвязывающий участок перекрестно конкурирует с ипилимумабом и/или тремелимумабом за связывание с CTLA-4 человека.

[0432] В некоторых аспектах антитело представляет собой

мультиспецифическое антитело, например, биспецифическое антитело, которое специфично к (i) CTLA-4 и (ii) второму антигену. В некоторых аспектах антитело представляет собой мультиспецифическое антитело, например, биспецифическое антитело, которое специфично к (i) CTLA-4 и (ii) CD3.

II.A.2. Анти-LAG-3 антитела

[0433] В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает антитело или его антигенсвязывающий участок, которая специфически связывает LAG-3 ("анти-LAG-3 антитело"), например, релатилимаб. Анти-LAG-3 антитела по настоящему изобретению связываются с человеческим LAG-3. Любое анти-LAG-3 антитело может быть использовано в фармацевтических композициях и способах, раскрытых в настоящем документе. Антитела, которые связываются с LAG-3, были раскрыты в публикации Int'l Публ. No. WO/2015/042246 и патентах США 2014/0093511 и 2011/0150892, каждая из которых включена в настоящий документ посредством ссылки во всей своей полноте.

[0434] Примером антитела к LAG-3, применимым в настоящем раскрытии, является 25F7 (описано в публикации США № 2011/0150892). Еще одним примером антитела LAG-3, применимым в настоящем раскрытии, является BMS-986016 (релатлимаб). В некоторых аспектах анти-LAG-3 антитело, применимое в настоящем раскрытии, перекрестно конкурирует с 25F7 или BMS-986016, В некоторых аспектах анти-LAG-3 антитело, применимое в настоящем раскрытии, связывается с тем же эпитопом, что и 25F7 или BMS-986016, В некоторых аспектах анти-LAG-3 антитело включает шесть последовательностей CDR из 25F7 или BMS-986016,

[0435] Другие признанные в уровне техники анти-LAG-3 антитела, которые могут быть использованы в способах и/или композициях раскрытия, включают IMP731 (H5L7BW), описанный в US 2011/007023, MK-4280 (28G-10, фавезелимаб), описанный в WO2016028672 и публикации США № 2020/0055938, REGN3767 (фианлимаб), описанный в Burova E, et al., J. Immunother. Cancer (2016); 4(Supp. 1):P195 и патенте США № 10,358,495, гуманизированный BAP050, описанный в WO2017/019894, GSK2831781, IMP-701 (LAG525; иперамилимаб), описанный в патенте США № 10,711,060 и публикации США № 2020/0172617, aLAG3(0414), aLAG3(0416), Sym022, TSR-033, TSR-075, XmAb841 (ранее XmAb22841), MGD013 (теботелимаб), BI754111, FS118, P 13B02-30, AVA-017, AGEN1746, RO7247669, INCAGN02385, IBI-110, EMB-02, IBI-323, LBL-007 и ABL501. Данные и другие анти-LAG-3 антитела, применимые в заявленном изобретении, можно найти, например, в:

US 10,188,730, WO 2016/028672, WO 2017/106129, WO2017/062888, WO2009/044273, WO2018/069500, WO2016/126858, WO2014/179664, WO2016/200782, WO2015/200119, WO2017/019846, WO2017/198741, WO2017/220555, WO2017/220569, WO2018/071500, WO2017/015560, WO2017/025498, WO2017/087589, WO2017/087901, WO2018/083087, WO2017/149143, WO2017/219995, US2017/0260271, WO2017/086367, WO2017/086419, WO2018/034227, WO2018/185046, WO2018/185043, WO2018/217940, WO19/011306, WO2018/208868, WO2014/140180, WO2018/201096, WO2018/204374, и WO2019/018730. Содержимое каждой из данных ссылок включено в настоящий документ посредством ссылки в полном объеме.

[0436] Анти-LAG-3 антитела, которые могут быть использованы в способах и/или композициях раскрытия, также включают выделенные антитела, которые специфически связываются с человеческим LAG-3 и конкурируют за связывание с человеческим LAG-3 с любым анти-LAG-3 антителом, раскрытым в настоящем документе, например, релатилимабом. В некоторых аспектах анти-LAG-3 антитело связывает тот же эпитоп, что и любое из описанных здесь анти-LAG-3 антител, например, релатилимаб.

[0437] В некоторых аспектах антитела, которые конкурируют за связывание с человеческим LAG-3 или связываются с той же эпитопной областью, что и любое анти-LAG-3 антитело, раскрытое в настоящем документе, например, релатилимаб, являются моноклональными антителами. Для введения пациентам-людям данные перекрестно конкурирующие антитела представляют собой химерные антитела, сконструированные антитела, гуманизированные или человеческие антитела. Такие химерные, сконструированные, гуманизированные или человеческие моноклональные антитела могут быть получены и выделены способами, хорошо известными в данной области техники.

[0438] Способность антител перекрестно конкурировать за связывание с антигеном указывает на то, что антитела связываются с одной и той же эпитопной областью антигена и стерически препятствуют связыванию других перекрестно конкурирующих антител с данной конкретной эпитопной областью. Ожидается, что данные перекрестно конкурирующие антитела будут иметь функциональные свойства, очень похожие на свойства эталонного антитела, например, релатилимаба, в силу их связывания с той же эпитопной областью. Перекрестно конкурирующие антитела могут быть легко идентифицированы на основе их способности перекрестно конкурировать в стандартных анализах связывания, таких как анализ Biacore, анализ

ELISA или проточная цитометрия (см., например, WO 2013/173223).

[0439] Анти-LAG-3 антитела, которые могут быть использованы в способах и/или композициях раскрытия, также включают антигенсвязывающие участки любого из вышеуказанных полноразмерных антител. Было убедительно продемонстрировано, что антигенсвязывающая функция антитела может выполняться фрагментами полноразмерного антитела.

[0440] В некоторых аспектах антитело к LAG-3 представляет собой полноразмерное антитело.

[0441] В некоторых аспектах анти-LAG-3 антитело представляет собой моноклональное, человеческое, гуманизированное, химерное или мультиспецифическое антитело. В некоторых аспектах мультиспецифическое антитело представляет собой ретаргетинговое антитело с двойственным сродством (DART), DVD-Ig или биспецифическое антитело.

[0442] В некоторых аспектах анти-LAG-3 антитело представляет собой фрагмент F(ab')2, фрагмент Fab', фрагмент Fab, фрагмент Fv, фрагмент scFv, фрагмент dsFv, фрагмент dAb или одноцепочечный связывающий полипептид.

[0443] В некоторых аспектах анти-LAG-3 антитело представляет собой BMS-986016 (релатлимаб), IMP731 (H5L7BW), MK4280 (28G-10, фавезелимаб), REGN3767 (фианлимаб), GSK2831781, гуманизированное BAP050, IMP-701 (LAG525, иперамилимаб), aLAG3(0414), aLAG3(0416), Sym022, TSR-033, TSR-075, XmAb841 (XmAb22841), MGD013 (теботелимаб), BI754111, FS118, P 13B02-30, AVA-017, 25F7, AGEN1746, RO7247669, INCAGN02385, IBI-110, EMB-02, IBI-323, LBL-007, ABL501, или включает его антигенсвязывающий участок.

[0444] В некоторых аспектах анти-LAG-3 антитело представляет собой релатилимаб.

[0445] В некоторых аспектах анти-LAG-3 антитело представляет собой MGD013 (теботелимаб), который представляет собой биспецифическое PD-1 × LAG-3 DART.

[0446] В некоторых аспектах анти-LAG-3 антитело представляет собой REGN3767 (фианлимаб).

[0447] В некоторых аспектах анти-LAG-3 антитело представляет собой LAG525 (иперамилимаб).

[0448] В некоторых аспектах анти-LAG-3 антитело представляет собой MK4280 (фавезелимаб).

[0449] В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает: (a) анти-LAG-3 антитело; (b) около 20 мМ гистидина; (c) около 250 мМ сахарозы; (d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80; (e) около 50 мкМ пентетовой кислоты; и (f) около 5 мМ метионина. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает: (a) релатилимаб; (b) около 20 мМ гистидина; (c) около 250 мМ сахарозы; (d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80; (e) около 50 мкМ пентетовой кислоты; и (f) около 5 мМ метионина. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает: (a) анти-LAG-3 антитело; (b) около 20 мМ гистидина; (c) около 250 мМ сахарозы; (d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80; (e) около 50 мкМ пентетовой кислоты; (f) около 5 мМ метионина; и (g) около 2000 Ед/мл rHuPH20. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает: (a) релатилимаб; (b) около 20 мМ гистидина; (c) около 250 мМ сахарозы; (d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80; (e) около 50 мкМ пентетовой кислоты; (f) около 5 мМ метионина; и (g) около 2000 Ед/мл rHuPH20.

[0450] В некоторых аспектах анти-LAG-3 антитело, например, релатилимаб, может быть сформулировано вместе с анти-PD-1 антителом в любом из составов, раскрытых в настоящем документе, как единый состав. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает: (a) около 150 мг/мл анти-PD-1 антитела; (b) около 20 мМ гистидина; (c) около 250 мМ сахарозы; (d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80; (e) около 50 мкМ пентетовой кислоты; (f) около 5 мМ метионина; и (g) анти-LAG-3 антитело. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает: (a) около 150 мг/мл анти-PD-1 антитела; (b) около 20 мМ гистидина; (c) около 250 мМ сахарозы; (d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80; (e) около 50 мкМ пентетовой кислоты; (f) около 5 мМ метионина; и (g) релатилимаб. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает: (a) около 150 мг/мл анти-PD-1 антитела; (b) около 20 мМ гистидина; (c) около 250 мМ сахарозы; (d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80; (e) около 50 мкМ пентетовой кислоты; (f) около 5 мМ метионина; (g) анти-LAG- 3 антитело; и (h) около 2000 Ед/мл rHuPH20. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает: (a) около 150 мг/мл анти-PD-1 антитела; (b) около 20 мМ гистидина; (c) около 250 мМ сахарозы; (г) около 0,05% масс./об. полисорбата 80; (d) около 50 мкМ пентетовой кислоты; (e) около 5 мМ метионина; (g) релатилимаб; и (h) около 2000 Ед/мл rHuPH20.

[0451] В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает: (a) около 150 мг/мл ниволумаба; (b) около 20 мМ гистидина; (c) около 250 мМ сахарозы;

(d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80; (e) около 50 мкМ пентетовой кислоты; (f) около 5 мМ метионина; и (g) анти-LAG-3 антитело. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает: (a) около 150 мг/мл ниволумаба; (b) около 20 мМ гистидина; (c) около 250 мМ сахарозы; (d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80; (e) около 50 мкМ пентетовой кислоты; (f) около 5 мМ метионина; и (g) релатилимаб. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает: (a) около 150 мг/мл ниволумаба; (b) около 20 мМ гистидина; (c) около 250 мМ сахарозы; (d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80; (e) около 50 мкМ пентетовой кислоты; (f) около 5 мМ метионина; (g) антитело к LAG-3; и (h) около 2000 Ед/мл rHuPH20. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает: (a) около 150 мг/мл ниволумаба; (b) около 20 мМ гистидина; (c) около 250 мМ сахарозы; (d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80; (e) около 50 мкМ пентетовой кислоты; (f) около 5 мМ метионина; (g) релатилимаб; и (h) около 2000 Ед/мл rHuPH20.

[0452] Примерным антителом LAG-3, применимым в настоящем раскрытии, является 25F7 (описано в публикации США № 2011/0150892). Еще одним примерным антителом LAG-3, применимым в настоящем раскрытии, является BMS-986016, В одном аспекте анти-LAG-3 антитело, применимое для композиции, перекрестно конкурирует с 25F7 или BMS-986016, В другом аспекте, анти-LAG-3 антитело, применимое для композиции, связывается с тем же эпитопом, что и 25F7 или BMS-986016, В других аспектах анти-LAG-3 антитело включает шесть последовательностей CDR из 25F7 или BMS-986016,

[0453] В некоторых аспектах антитело представляет собой мультиспецифическое антитело, например, биспецифическое антитело, которое специфично к (i) LAG-3 и (ii) второму антигену. В некоторых аспектах антитело представляет собой мультиспецифическое антитело, например, биспецифическое антитело, которое специфично к (i) LAG-3 и (ii) CD3.

II.A.5. Анти-CD137 антитела

[0454] В некоторых аспектах второе антитело включает анти-CD137 антитело. Анти-CD137 антитела специфически связываются с иммунными клетками, экспрессирующими CD137, и активируют их, стимулируя иммунный ответ, в частности цитотоксический ответ Т-клеток, против опухолевых клеток. Антитела, связывающиеся с CD137, раскрыты в публикации США № 2005/0095244 и патентах США №№ 7,288,638, 6,887,673, 7,214,493, 6,303,121, 6,569,997, 6,905,685, 6,355,476, 6,362,325, 6,974,863, и 6,210,669.

[0455] В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает: (a) анти-CD137 антитело; (b) около 20 мМ гистидина; (c) около 250 мМ сахарозы; (d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80; (e) около 50 мкМ пентетовой кислоты; и (f) около 5 мМ метионина. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает: (a) анти-CD137 антитело; (b) около 20 мМ гистидина; (c) около 250 мМ сахарозы; (d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80; (e) около 50 мкМ пентетовой кислоты; (f) около 5 мМ метионина; и (g) около 2000 Ед/мл rHuPH20.

[0456] В некоторых аспектах анти-CD137 антитело может быть сформулировано вместе с анти-PD-1 антителом в любом из составов, раскрытых в настоящем документе, как единый состав. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает: (a) около 150 мг/мл анти-PD-1 антитела; (b) около 20 мМ гистидина; (c) около 250 мМ сахарозы; (d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80; (e) около 50 мкМ пентетовой кислоты; (f) около 5 мМ метионина; и (g) анти-CD137 антитело. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает: (a) около 150 мг/мл анти-PD-1 антитела; (b) около 20 мМ гистидина; (c) около 250 мМ сахарозы; (d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80; (e) около 50 мкМ пентетовой кислоты; (f) около 5 мМ метионина; (g) анти-CD137 антитело; и (h) около 2000 Ед/мл rHuPH20.

[0457] В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает: (a) около 150 мг/мл ниволумаба; (b) около 20 мМ гистидина; (c) около 250 мМ сахарозы; (d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80; (e) около 50 мкМ пентетовой кислоты; (f) около 5 мМ метионина; и (g) анти-CD137 антитело. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает: (a) около 150 мг/мл ниволумаба; (b) около 20 мМ гистидина; (c) около 250 мМ сахарозы; (d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80; (e) около 50 мкМ пентетовой кислоты; (f) около 5 мМ метионина; (g) анти-CD137 антитело; и (h) около 2000 Ед/мл rHuPH20.

[0458] В некоторых аспектах анти-CD137 антитело представляет собой урелумаб (BMS-663513), описанный в патенте США № 7,288,638 (20H4.9-IgG4 [10C7 или BMS-663513]). В некоторых аспектах анти-CD137 антитело представляет собой BMS-663031 (20H4.9-IgG1), описанное в в патенте США № 7,288,638. В некоторых аспектах анти-CD137 антитело представляет собой 4E9 или BMS-554271, описанное в патенте США № 6,887,673. В некоторых аспектах анти-CD137 антитело представляет собой антитело, раскрытое в патентах США №№ 7,214,493; 6,303,121; 6,569,997; 6,905,685; или 6,355,476, В некоторых аспектах анти-CD137 антитело представляет собой 1D8 или BMS-469492; 3H3 или BMS-469497; или 3E1, описанные в патенте

США № 6,362,325. В некоторых аспектах анти-CD137 антитело представляет собой антитело, раскрытое в патенте США № 6,974,863 (например, 53A2). В некоторых аспектах анти-CD137 антитело представляет собой антитело, раскрытое в патенте США № 6,210,669 (например, 1D8, 3B8 или 3E1). В некоторых аспектах антитело представляет собой PF-05082566 (PF-2566) компании Pfizer. В других аспектах анти-CD137 антитело, применимое для изобретения, перекрестно конкурирует с анти-CD137 антителами, раскрытыми в настоящем документе. В некоторых аспектах анти-CD137 антитело связывается с тем же эпитопом, что и анти-CD137 антитело, раскрытое в настоящем документе. В других аспектах анти-CD137 антитело, применимое в раскрытии изобретения, включает шесть последовательностей CDR анти-CD137 антитела, раскрытого в настоящем документе.

[0459] В некоторых аспектах антитело представляет собой мультиспецифическое антитело, например, биспецифическое антитело, которое специфично к (i) CD137 и (ii) второму антигену. В некоторых аспектах антитело представляет собой мультиспецифическое антитело, например, биспецифическое антитело, которое специфично к (i) CD137 и (ii) CD3.

II.A.6. Анти-KIR антитела

[0460] В некоторых аспектах второе антитело включает анти-KIR3 антитело. Антитела, специфически связывающиеся с KIR, блокируют взаимодействие между иммуноглобулиноподобными рецепторами клеток-убийц (Killer-cell immunoglobulin-like receptors (KIR)) на NK-клетках и их лигандами. Блокирование таких рецепторов облегчает активацию NK-клеток и, потенциально, уничтожение опухолевых клеток последними. Примеры анти-KIR антител раскрыты в Int'l публикациях №№ WO/2014/055648, WO 2005/003168, WO 2005/009465, WO 2006/072625, WO 2006/072626, WO 2007/042573, WO 2008/084106, WO 2010/065939, WO 2012/071411 и WO/2012/160448.

[0461] В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает: (a) анти-KIR антитело; (b) около 20 мМ гистидина; (c) около 250 мМ сахарозы; (d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80; (e) около 50 мкМ пентетовой кислоты; и (f) около 5 мМ метионина. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает: (a) анти-KIR антитело; (b) около 20 мМ гистидина; (c) около 250 мМ сахарозы; (d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80; (e) около 50 мкМ пентетовой кислоты; (f) около 5 мМ метионина; и (g) около 2000 Ед/мл rHuPH20.

[0462] В некоторых аспектах анти-KIR антитело может быть сформулировано

вместе с анти-PD- 1 антителом в любом из составов, раскрытых в настоящем документе, как единый состав. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает: (a) около 150 мг/мл анти-PD-1 антитела; (b) около 20 мМ гистидина; (c) около 250 мМ сахарозы; (d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80; (e) около 50 мкМ пентетовой кислоты; (f) около 5 мМ метионина; и (g) анти-KIR антитело. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает: (a) около 150 мг/мл анти-PD-1 антитела; (b) около 20 мМ гистидина; (c) около 250 мМ сахарозы; (d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80; (e) около 50 мкМ пентетовой кислоты; (f) около 5 мМ метионина; (g) анти-KIR антитело; и (h) около 2000 Ед/мл rHuPH20.

[0463] В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает: (a) около 150 мг/мл ниволумаба; (b) около 20 мМ гистидина; (c) около 250 мМ сахарозы; (d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80; (e) около 50 мкМ пентетовой кислоты; (f) около 5 мМ метионина; и (g) анти-KIR антитело.В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает: (a) около 150 мг/мл ниволумаба; (b) около 20 мМ гистидина; (c) около 250 мМ сахарозы; (d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80; (e) около 50 мкМ пентетовой кислоты; (f) около 5 мМ метионина; (g) анти-KIR антитело; и (h) около 2000 Ед/мл rHuPH20.

[0464] Одним анти-KIR антителом, применимым в настоящем изобретении, является лирилумаб (также упоминаемый как BMS-986015, IPH2102 или вариант S241P 1-7F9), впервые описанный в Int'l публикации № WO 2008/084106, Дополнительным анти-KIR антителом, применимым в настоящем раскрытии, является 1-7F9 (также называемое IPH2101), описанное в Int'l публикации № WO 2006/003179. В одном аспекте анти-KIR антитело для настоящей композиции перекрестно конкурирует за связывание с KIR с лирилумабом или I-7F9. В другом аспекте анти-KIR антитело связывается с тем же эпитопом, что и лирилумаб или I-7F9. В других аспектах анти-KIR антитело включает шесть последовательностей CDR лирилумаба или I-7F9.

[0465] В некоторых аспектах антитело представляет собой мультиспецифическое антитело, например, биспецифическое антитело, которое специфично к (i) KIR и (ii) второму антигену. В некоторых аспектах антитело представляет собой мультиспецифическое антитело, например, биспецифическое антитело, которое специфично к (i) KIR и (ii) CD3.

II.A.7. Анти-GITR антитела

[0466] В некоторых аспектах второе антитело включает анти-GITR антитело.

Анти-GITR антитело включает любое анти-GITR антитело, которое специфически связывается с мишенью GITR человека и активирует рецептор фактора некроза опухоли, индуцированный глюкокортикоидами (glucocorticoid-induced tumor necrosis factor receptor (GITR)). GITR является членом суперсемейства рецепторов TNF, который экспрессируется на поверхности множества типов иммунных клеток, включая регуляторные Т-клетки, эффекторные Т-клетки, В-клетки, естественные клетки-киллеры (NK) и активированные дендритные клетки ("антитела-агонисты к GITR"). В частности, активация GITR увеличивает пролиферацию и функцию эффекторных Т-клеток, а также отменяет супрессию, вызываемую активированными регуляторными Т-клетками. Кроме того, стимуляция GITR способствует развитию противоопухолевого иммунитета за счет повышения активности других иммунных клеток, таких как NK-клетки, антигенпрезентирующие клетки и В-клетки. Примеры анти-GITR антител раскрыты в Int'l публикациях №№ WO/2015/031667, WO2015/184,099, WO2015/026,684, WO11/028683 и WO/2006/105021, патентах США №№ 7,812,135 и 8,388,967 и в публикациях США №№ 2009/0136494, 2014/0220002, 2013/0183321 и 2014/0348841.

[0467] В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает: (a) анти-GITR антитело; (b) около 20 мМ гистидина; (c) около 250 мМ сахарозы; (d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80; (e) около 50 мкМ пентетовой кислоты; и (f) около 5 мМ метионина. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает: (a) анти-GITR антитело; (b) около 20 мМ гистидина; (c) около 250 мМ сахарозы; (d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80; (e) около 50 мкМ пентетовой кислоты; (f) около 5 мМ метионина; и (g) около 2000 Ед/мл rHuPH20.

[0468] В некоторых аспектах анти-GITR антитело может быть сформулировано вместе с анти PD-1 антителом в любом из составов, раскрытых в настоящем документе, как единый состав. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает: (a) около 150 мг/мл анти-PD-1 антитела; (b) около 20 мМ гистидина; (c) около 250 мМ сахарозы; (d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80; (e) около 50 мкМ пентетовой кислоты; (f) около 5 мМ метионина; и (g) анти-GITR антитело. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает: (a) около 150 мг/мл анти-PD-1 антитела; (b) около 20 мМ гистидина; (c) около 250 мМ сахарозы; (d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80; (e) около 50 мкМ пентетовой кислоты; (f) около 5 мМ метионина; (g) анти-GITR антитело; и (h) около 2000 Ед/мл rHuPH20.

[0469] В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает: (a)

около 150 мг/мл ниволумаба; (b) около 20 мМ гистидина; (c) около 250 мМ сахарозы; (d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80; (e) около 50 мкМ пентетовой кислоты; (f) около 5 мМ метионина; и (g) анти-GITR антитело.В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает: (a) около 150 мг/мл ниволумаба; (b) около 20 мМ гистидина; (c) около 250 мМ сахарозы; (d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80; (e) около 50 мкМ пентетовой кислоты; (f) около 5 мМ метионина; (g) анти-GITR антитело; и (h) около 2000 Ед/мл rHuPH20.

[0470] В одном аспекте анти-GITR антитело, применимое в настоящем раскрытии, представляет собой TRX518 (описано, например, в Schaer *et al. Curr Opin Immunol.* (2012) Apr; 24(2): 217-224, и WO/2006/105021). В другом аспекте анти-GITR антитело выбрано из MK4166, MK1248 и антител, описанных в WO11/028683 и США 8,709,424, и включает, например, цепь VH, включающую SEQ ID NO: 104, и цепь VL, включающую SEQ ID NO: 105 (где SEQ ID NO взяты из WO11/028683 или США 8,709,424). В определенных аспектах анти-GITR антитело представляет собой анти-GITR антитело, раскрытое в WO2015/031667, например, антитело, включающее последовательности VH CDR 1-3, включающие SEQ ID NO: 31, 71 и 63 из WO2015/031667, соответственно, и последовательности VL CD 1-3, включающие SEQ ID NO: 5, 14 и 30 из WO2015/031667. В определенных аспектах анти-GITR антитело представляет собой анти-GITR антитело, раскрытое в WO2015/184099, например, антитело Hum 231#1 или Hum 231#2, или их CDR-последовательности, или их производное (например, pab1967, pab1975 или pab1979). В определенных аспектах анти-GITR антитело представляет собой анти-GITR антитело, раскрытое в JP2008278814, WO09/009116, WO2013/039954, США 20140072566, США 20140072565, США 20140065152 или WO2015/026684, или представляет собой INBRX-110 (INHIBRx), LKZ-145 (Novartis), или MEDI-1873 (MedImmune). В некоторых аспектах анти-GITR антитело представляет собой анти-GITR антитело, описанное в PCT/US2015/033991 (например, антитело, включающее вариабельные области из 28F3, 18E10 или 19D3).

[0471] В некоторых аспектах анти-GITR антитело перекрестно конкурирует с анти-GITR антителом, описанным в настоящем документе, например, TRX518, MK4166 или антителом, включающим аминокислотную последовательность домена VH и домена VL, описанную в настоящем документе. В некоторых аспектах анти-GITR антитело связывает тот же эпитоп, что и анти-GITR антитело, описанное в данном документе, например, TRX518, MK4166 или антитело, включающее

аминокислотную последовательность домена VH и домена VL, описанную в данном документе. В некоторых аспектах анти-GITR антитело включает шесть последовательностей CDR из TRX518, MK4166 или CDR антитела, включающего аминокислотную последовательность домена VH и домена VL, описанную в настоящем документе.

[0472] В некоторых аспектах антитело представляет собой мультиспецифическое антитело, например, биспецифическое антитело, которое специфично к (i) GITR и (ii) второму антигену. В некоторых аспектах антитело представляет собой мультиспецифическое антитело, например, биспецифическое антитело, которое специфично к (i) GITR и (ii) CD3.

II.A.8. Анти-TIM3 антитела

[0473] В некоторых аспектах второе антитело включает анти-TIM3 антитело. В некоторых аспектах анти-TIM3 антитело включает выбранное из анти-TIM3 антител, раскрытых в Int'l публикациях №№ WO2018013818, WO/2015/117002 (например, MGB453, Novartis), WO/2016/161270 (например, TSR-022, Tesaro/AnaptysBio), WO2011155607, WO2016/144803 (например, STI-600, Sorrento Therapeutics), WO2016/071448, WO17055399; WO17055404, WO17178493, WO18036561, WO18039020 (например, Ly-3221367, Eli Lilly), WO2017205721, WO17079112; WO17079115; WO17079116, WO11159877, WO13006490, WO2016068802, WO2016068803, WO2016/111947, WO/2017/031242.

[0474] В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает: (a) анти-TIM3 антитело; (b) около 20 мМ гистидина; (c) около 250 мМ сахарозы; (d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80; (e) около 50 мкМ пентетовой кислоты; и (f) около 5 мМ метионина. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает: (a) анти-TIM3 антитело; (b) около 20 мМ гистидина; (c) около 250 мМ сахарозы; (d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80; (e) около 50 мкМ пентетовой кислоты; (f) около 5 мМ метионина; и (g) около 2000 Ед/мл rHuPH20.

[0475] В некоторых аспектах анти-TIM3 антитело может быть сформулировано вместе с антителом против PD-1 в любом из составов, раскрытых в настоящем документе, как единый состав. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает: (a) около 150 мг/мл анти-PD-1 антитела; (b) около 20 мМ гистидина; (c) около 250 мМ сахарозы; (d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80; (e) около 50 мкМ пентетовой кислоты; (f) около 5 мМ метионина; и (g) анти-TIM3 антитело. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает: (a) около 150 мг/мл

анти-PD-1 антитела; (b) около 20 мМ гистидина; (c) около 250 мМ сахарозы; (d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80; (e) около 50 мкМ пентетовой кислоты; (f) около 5 мМ метионина; (g) анти-TIM3 антитело; и (h) около 2000 Ед/мл rHuPH20.

[0476] В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает: (a) около 150 мг/мл ниволумаба; (b) около 20 мМ гистидина; (c) около 250 мМ сахарозы; (d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80; (e) около 50 мкМ пентетовой кислоты; (f) около 5 мМ метионина; и (g) анти-ТИМ3 антитело. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает: (a) около 150 мг/мл ниволумаба; (b) около 20 мМ гистидина; (c) около 250 мМ сахарозы; (d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80; (e) около 50 мкМ пентетовой кислоты; (f) около 5 мМ метионина; (g) анти-TIM3 антитело; и (h) около 2000 Ед/мл rHuPH20.

[0477] В некоторых аспектах антитело представляет собой мультиспецифическое антитело, например, биспецифическое антитело, которое специфично к (i) TIM-3 и (ii) второму антигену. В некоторых аспектах антитело представляет собой мультиспецифическое антитело, например, биспецифическое антитело, которое специфично к (i) TIM-3 и (ii) CD3.

II.A.9. Анти-OX40 антитела

[0478] В некоторых аспектах второе антитело включает анти-OX40 антитело (также известное как CD134, TNFRSF4, ACT35 и/или TXGP1L). В некоторых аспектах антитело анти-OX40 антитело включает BMS-986178 (Bristol-Myers Squibb Company), описанное в Int'l публикации № WO20160196228. В некоторых аспектах анти-OX40 антитело включает выбранное из анти-OX40 антител, описанных в Int'l публикациях №№ WO95012673, WO199942585, WO14148895, WO15153513, WO15153514, WO13038191, WO16057667, WO03106498, WO12027328, WO13028231, WO16200836, WO 17063162, WO17134292, WO 17096179, WO 17096281 и WO 17096182.

[0479] В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает: (a) анти-OX40 антитело; (b) около 20 мМ гистидина; (c) около 250 мМ сахарозы; (d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80; (e) около 50 мкМ пентетовой кислоты; и (f) около 5 мМ метионина. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает: (a) анти-OX40 антитело; (b) около 20 мМ гистидина; (c) около 250 мМ сахарозы; (г) около 0,05% масс./об. полисорбата 80; (d) около 50 мкМ пентетовой кислоты; (e) около 5 мМ метионина; и (g) около 2000 Ед/мл rHuPH20.

[0480] В некоторых аспектах анти-OX40 антитело может быть сформулировано вместе с анти-PD-1 антителом в любом из составов, раскрытых в настоящем

документе, как единый состав. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает: (a) около 150 мг/мл анти-PD-1 антитела; (b) около 20 мМ гистидина; (c) около 250 мМ сахарозы; (d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80; (e) около 50 мкМ пентетовой кислоты; (f) около 5 мМ метионина; и (g) анти-OX40 антитело. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает: (a) около 150 мг/мл анти-PD-1 антитела; (b) около 20 мМ гистидина; (c) около 250 мМ сахарозы; (d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80; (e) около 50 мкМ пентетовой кислоты; (f) около 5 мМ метионина; (g) анти-OX40 антитело; и (h) около 2000 Ед/мл rHuPH20.

[0481] В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает: (a) около 150 мг/мл ниволумаба; (b) около 20 мМ гистидина; (c) около 250 мМ сахарозы; (d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80; (e) около 50 мкМ пентетовой кислоты; (f) около 5 мМ метионина; и (g) анти-OX40 антитело. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает: (a) около 150 мг/мл ниволумаба; (b) около 20 мМ гистидина; (c) около 250 мМ сахарозы; (d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80; (e) около 50 мкМ пентетовой кислоты; (f) около 5 мМ метионина; (g) анти-OX40 антитело; и (h) около 2000 Ед/мл rHuPH20.

[0482] В некоторых аспектах антитело представляет собой мультиспецифическое антитело, например, биспецифическое антитело, которое специфично к (i) OX40 и (ii) второму антигену. В некоторых аспектах антитело представляет собой мультиспецифическое антитело, например, биспецифическое антитело, которое специфично к (i) OX40 и (ii) CD3.

II.A.10. Анти-NKG2A антитела

[0483] В некоторых аспектах второе антитело включает анти-NKG2A антитело. NKG2A является членом семейства рецепторов лектина C-типа, который экспрессируется на естественных киллерных (natural killer (NK)) клетках и подмножестве Т-лимфоцитов. В частности, NKG2A в первую очередь экспрессируется на инфильтрирующих опухоль эффекторных NK-клетках врожденного иммунитета, а также на некоторых CD8+ Т-клетках. Его естественный лиганд, который представляет собой человеческий лейкоцитарный антиген E (HLA-E), экспрессируется на солидных и гематологических опухолях. NKG2A является ингибирующим рецептором, который блокирует HLA-E.

[0484] В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает: (a) анти-NKG2A антитело; (b) около 20 мМ гистидина; (c) около 250 мМ сахарозы; (d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80; (e) около 50 мкМ пентетовой кислоты; и (f)

около 5 мМ метионина. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает: (a) анти-NKG2A антитело; (b) около 20 мМ гистидина; (c) около 250 мМ сахарозы; (d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80; (e) около 50 мкМ пентетовой кислоты; (f) около 5 мМ метионина; и (g) около 2000 Ед/мл rHuPH20.

[0485] В некоторых аспектах анти-NKG2A антитело может быть сформулировано вместе с анти-PD-1 антителом в любом из составов, раскрытых в настоящем документе, как единый состав. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает: (a) около 150 мг/мл анти-PD-1 антитела; (b) около 20 мМ гистидина; (c) около 250 мМ сахарозы; (d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80; (e) около 50 мкМ пентетовой кислоты; (f) около 5 мМ метионина; и (g) анти-NKG2A антитело. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает: (a) около 150 мг/мл анти-PD-1 антитела; (b) около 20 мМ гистидина; (c) около 250 мМ сахарозы; (d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80; (e) около 50 мкМ пентетовой кислоты; (f) около 5 мМ метионина; (g) анти-NKG2A антитело; и (h) около 2000 Ед/мл rHuPH20.

[0486] В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает: (a) около 150 мг/мл ниволумаба; (b) около 20 мМ гистидина; (c) около 250 мМ сахарозы; (d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80; (e) около 50 мкМ пентетовой кислоты; (f) около 5 мМ метионина; и (g) анти-NKG2A антитело. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает: (a) около 150 мг/мл ниволумаба; (b) около 20 мМ гистидина; (c) около 250 мМ сахарозы; (d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80; (e) около 50 мкМ пентетовой кислоты; (f) около 5 мМ метионина; (g) анти-NKG2A антитело; и (h) около 2000 Ед/мл rHuPH20.

[0487] В некоторых аспектах анти-NKG2A антитело включает BMS-986315, человеческое моноклональное антитело, которое блокирует взаимодействие NKG2A со своим лигандом HLA-E, что позволяет активировать противоопухолевый иммунный ответ. В некоторых аспектах анти-NKG2A антитело включает ингибитор контрольной точки, который активирует Т-клетки, NK-клетки и/или инфильтрирующие опухоль иммунные клетки. В некоторых аспектах анти-NKG2A антитело включает выбранное из анти-NKG2A антител, описанных, например, в WO 2006/070286 (Innate Pharma S.A.; University of Genova); патенте США № 8,993,319 (Innate Pharma S.A.; University of Genova); WO 2007/042573 (Innate Pharma S/A; Novo Nordisk A/S; University of Genova); патенте США № 9,447,185 (Innate Pharma S/A; Novo Nordisk A/S; University of Genova); WO 2008/009545 (Novo Nordisk A/S); патентах США №№ 8,206,709; 8,901,283; 9,683,041 (Novo Nordisk A/S); WO 2009/092805 (Novo

Nordisk A/S); патентах США №№ 8,796,427 и 9,422,368 (Novo Nordisk A/S); WO 2016/134371 (Ohio State Innovation Foundation); WO 2016/032334 (Janssen); WO 2016/041947 (Innate); WO 2016/041945 (Academisch Ziekenhuis Leiden H.O.D.N. LUMC); WO 2016/041947 (Innate Pharma); и WO 2016/041945 (Innate Pharma).

[0488] В некоторых аспектах антитело представляет собой мультиспецифическое антитело, например, биспецифическое антитело, которое специфично к (i) NKG2A и (ii) второму антигену. В некоторых аспектах антитело представляет собой мультиспецифическое антитело, например, биспецифическое антитело, которое специфично к (i) NKG2A и (ii) CD3.

II.A.11. Анти-ICOS антитела

[0489] В некоторых аспектах второе антитело включает анти-ICOS антитело. ICOS представляет собой белок иммунной контрольной точки, который является членом CD28-суперсемейства. ICOS представляет собой трансмембранный белок I типа с массой 55-60 кДа, который экспрессируется на Т-клетках после активации Т-клеток и стимулирует активацию Т-клеток после связывания своего лиганда ICOS-L (B7H2). ICOS также известен как индуцибельный ко-стимулятор Т-клеток, CVID1, AILIM, индуцибельный костимулятор, CD278, активационно-индуцибельная иммуномедиаторная молекула лимфоцитов и антиген CD278.

[0490] В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает: (a) анти-ICOS антитело; (b) около 20 мМ гистидина; (c) около 250 мМ сахарозы; (d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80; (e) около 50 мкМ пентетовой кислоты; и (f) около 5 мМ метионина. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает: (a) анти-ICOS антитело; (b) около 20 мМ гистидина; (c) около 250 мМ сахарозы; (d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80; (e) около 50 мкМ пентетовой кислоты; (f) около 5 мМ метионина; и (g) около 2000 Ед/мл rHuPH20.

[0491] В некоторых аспектах анти-ICOS антитело может быть сформулировано вместе с анти-PD-1 антителом в любом из составов, раскрытых в настоящем документе, как единый состав. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает: (a) около 150 мг/мл анти-PD-1 антитела; (b) около 20 мМ гистидина; (c) около 250 мМ сахарозы; (d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80; (e) около 50 мкМ пентетовой кислоты; (f) около 5 мМ метионина; и (g) анти-ICOS антитело. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает: (a) около 150 мг/мл анти-PD-1 антитела; (b) около 20 мМ гистидина; (c) около 250 мМ сахарозы; (d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80; (e) около 50 мкМ пентетовой кислоты; (f) около 5 мМ

метионина; (g) анти-ICOS антитело; и (h) около 2000 Ед/мл rHuPH20.

[0492] В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает: (a) около 150 мг/мл ниволумаба; (b) около 20 мМ гистидина; (c) около 250 мМ сахарозы; (d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80; (e) около 50 мкМ пентетовой кислоты; (f) около 5 мМ метионина; и (g) анти-ICOS антитело. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает: (a) около 150 мг/мл ниволумаба; (b) около 20 мМ гистидина; (c) около 250 мМ сахарозы; (d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80; (e) около 50 мкМ пентетовой кислоты; (f) около 5 мМ метионина; (g) антитело к ICOS; и (h) около 2000 Ед/мл rHuPH20.

[0493] В некоторых аспектах анти-ICOS антитело включает BMS-986226, гуманизированное IgG моноклональное антитело, которое связывается с человеческим ICOS и стимулирует его. В некоторых аспектах анти-ICOS антитело включает выбранное из анти-ICOS антител, описанных, например, в WO 2016/154177 (Jounce Therapeutics, Inc.), WO 2008/137915 (MedImmune), WO 2012/131004 (INSERM, French National Institute of Health and Medical Research), EP3147297 (INSERM, French National Institute of Health and Medical Research), WO 2011/041613 (Memorial Sloan Kettering Cancer Center), EP 2482849 (Memorial Sloan Kettering Cancer Center), WO 1999/15553 (Robert Koch Institute), патентах США №№ 7,259,247 и 7,722,872 (Robert Koch Institute); WO 1998/038216 (Japan Tobacco Inc.), патентах США №№ 7,045,615; 7,112,655, и 8,389,690 (Japan Tobacco Inc.), патентах США №№ 9,738,718 и 9,771,424 (GlaxoSmithKline) и WO 2017/220988 (Kymab Limited).

[0494] В некоторых аспектах антитело представляет собой мультиспецифическое антитело, например, биспецифическое антитело, которое специфично к (i) ICOS и (ii) второму антигену. В некоторых аспектах антитело представляет собой мультиспецифическое антитело, например, биспецифическое антитело, которое специфично к (i) ICOS и (ii) CD3.

II.A.12. Анти-TIGIT антитела

[0495] В некоторых аспектах второе антитело включает анти-TIGIT антитело. В некоторых аспектах анти-TIGIT антитело включает BMS-986207. В некоторых аспектах анти-TIGIT антитело включает клон 22G2, как описано в WO 2016/106302. В некоторых аспектах анти-TIGIT антитело включает MTIG7192A/RG6058/RO7092284 или клон 4.1D3, как описано в WO 2017/053748. В некоторых аспектах анти-TIGIT антитело включает выбранное из анти-TIGIT антител, описанных, например, в WO 2016/106302 (Bristol-Myers Squibb Company) и WO 2017/053748 (Genentech).

[0496] В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает: (a) анти-TIGIT антитело; (b) около 20 мМ гистидина; (c) около 250 мМ сахарозы; (d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80; (e) около 50 мкМ пентетовой кислоты; и (f) около 5 мМ метионина. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает: (a) анти-TIGIT антитело; (b) около 20 мМ гистидина; (c) около 250 мМ сахарозы; (d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80; (e) около 50 мкМ пентетовой кислоты; (f) около 5 мМ метионина; и (g) около 2000 Ед/мл rHuPH20.

[0497] В некоторых аспектах анти-TIGIT антитело может быть сформулировано вместе с антителом против PD-1 в любом из составов, раскрытых в настоящем документе, как единый состав. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает: (a) около 150 мг/мл анти-PD-1 антитела; (b) около 20 мМ гистидина; (c) около 250 мМ сахарозы; (d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80; (e) около 50 мкМ пентетовой кислоты; (f) около 5 мМ метионина; и (g) анти-TIGIT антитело. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает: (a) около 150 мг/мл анти-PD-1 антитела; (b) около 20 мМ гистидина; (c) около 250 мМ сахарозы; (d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80; (e) около 50 мкМ пентетовой кислоты; (f) около 5 мМ метионина; (g) анти-TIGIT антитело; и (h) около 2000 Ед/мл rHuPH20.

[0498] В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает: (a) около 150 мг/мл ниволумаба; (b) около 20 мМ гистидина; (c) около 250 мМ сахарозы; (d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80; (e) около 50 мкМ пентетовой кислоты; (f) около 5 мМ метионина; и (g) анти-TIGIT антитело. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает: (a) около 150 мг/мл ниволумаба; (b) около 20 мМ гистидина; (c) около 250 мМ сахарозы; (d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80; (e) около 50 мкМ пентетовой кислоты; (f) около 5 мМ метионина; (g) анти-TIGIT антитело; и (h) около 2000 Ед/мл rHuPH20.

[0499] В некоторых аспектах антитело представляет собой мультиспецифическое антитело, например, биспецифическое антитело, которое специфически связывает (i) TIGIT и (ii) второй антиген. В некоторых аспектах антитело включает биспецифическое антитело к TIGIT, которое специфически связывает (i) TIGIT; и (ii) ингибиторный рецептор, экспрессированный на Т-клетках, NK-клетках или как на Т-клетках, так и на NK-клетках. В некоторых аспектах антитело представляет собой мультиспецифическое антитело, например, биспецифическое антитело, которое специфически связывает (i) TIGIT и (ii) CD3.

II.A.13. Анти-IL-12 антитела

[0500] В некоторых аспектах второе антитело включает анти-IL-12 антитело. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает: (a) анти-IL-12 антитело; (b) около 20 мМ гистидина; (c) около 250 мМ сахарозы; (d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80; (e) около 50 мкМ пентетовой кислоты; и (f) около 5 мМ метионина. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает: (a) анти-IL-12 антитело; (b) около 20 мМ гистидина; (c) около 250 мМ сахарозы; (d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80; (e) около 50 мкМ пентетовой кислоты; (f) около 5 мМ метионина; и (g) около 2000 Ед/мл rHuPH20.

[0501] В некоторых аспектах анти-IL-12 антитело может быть сформулировано вместе с анти-PD-1 антителом в любом из составов, раскрытых в настоящем документе, как единый состав. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает: (a) около 150 мг/мл анти-PD-1 антитела; (b) около 20 мМ гистидина; (c) около 250 мМ сахарозы; (d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80; (e) около 50 мкМ пентетовой кислоты; (f) около 5 мМ метионина; и (g) анти-IL-12 антитело. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает: (a) около 150 мг/мл анти-PD-1 антитела; (b) около 20 мМ гистидина; (c) около 250 мМ сахарозы; (d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80; (e) около 50 мкМ пентетовой кислоты; (f) около 5 мМ метионина; (g) анти-IL-12 антитело; и (h) около 2000 Ед/мл rHuPH20.

[0502] В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает: (a) около 150 мг/мл ниволумаба; (b) около 20 мМ гистидина; (c) около 250 мМ сахарозы; (d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80; (e) около 50 мкМ пентетовой кислоты; (f) около 5 мМ метионина; и (g) анти-IL-12 антитело. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает: (a) около 150 мг/мл ниволумаба; (b) около 20 мМ гистидина; (c) около 250 мМ сахарозы; (d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80; (e) около 50 мкМ пентетовой кислоты; (f) около 5 мМ метионина; (g) анти-IL-12 антитело; и (h) около 2000 Ед/мл rHuPH20.

[0503] В некоторых аспектах антитело представляет собой мультиспецифическое антитело, например, биспецифическое антитело, которое специфично к (i) IL-12 и (ii) второму антигену. В некоторых аспектах антитело представляет собой мультиспецифическое антитело, например, биспецифическое антитело, которое специфично к (i) IL-12 и (ii) CD3.

II.A.14. Анти-IL-13 антитела

[0504] В некоторых аспектах второе антитело включает анти-IL-13 антитело. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает: (a) анти-IL-13 антитело;

(b) около 20 мМ гистидина; (c) около 250 мМ сахарозы; (d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80; (e) около 50 мкМ пентетовой кислоты; и (f) около 5 мМ метионина. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает: (a) анти-IL-13 антитело; (b) около 20 мМ гистидина; (c) около 250 мМ сахарозы; (d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80; (e) около 50 мкМ пентетовой кислоты; (f) около 5 мМ метионина; и (g) около 2000 Ед/мл rHuPH20.

[0505] В некоторых аспектах анти-IL-13 антитело может быть сформулировано вместе с анти-PD-1 антителом в любом из составов, раскрытых в настоящем документе, как единый состав. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает: (a) около 150 мг/мл анти-PD-1 антитела; (b) около 20 мМ гистидина; (c) около 250 мМ сахарозы; (d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80; (e) около 50 мкМ пентетовой кислоты; (f) около 5 мМ метионина; и (g) анти-IL-13 антитело. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает: (a) около 150 мг/мл анти-PD-1 антитела; (b) около 20 мМ гистидина; (c) около 250 мМ сахарозы; (d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80; (e) около 50 мкМ пентетовой кислоты; (f) около 5 мМ метионина; (g) анти-IL-13 антитело; и (h) около 2000 Ед/мл rHuPH20.

[0506] В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает: (a) около 150 мг/мл ниволумаба; (b) около 20 мМ гистидина; (c) около 250 мМ сахарозы; (d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80; (e) около 50 мкМ пентетовой кислоты; (f) около 5 мМ метионина; и (g) анти-IL-13 антитело. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает: (a) около 150 мг/мл ниволумаба; (b) около 20 мМ гистидина; (c) около 250 мМ сахарозы; (d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80; (e) около 50 мкМ пентетовой кислоты; (f) около 5 мМ метионина; (g) анти-IL-13 антитело; и (h) около 2000 Ед/мл rHuPH20.

[0507] В некоторых аспектах антитело представляет собой мультиспецифическое антитело, например, биспецифическое антитело, которое специфично к (i) IL-13 и (ii) второму антигену. В некоторых аспектах антитело представляет собой мультиспецифическое антитело, например, биспецифическое антитело, которое специфично к (i) IL-13 и (ii) CD3.

II.A.15. Анти-IL-15 антитела

[0508] В некоторых аспектах второе антитело включает анти-IL-15 антитело. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает: (a) анти-IL-15 антитело; (b) около 20 мМ гистидина; (c) около 250 мМ сахарозы; (d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80; (e) около 50 мкМ пентетовой кислоты; и (f) около 5 мМ метионина. В

некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает: (a) анти-IL-15 антитело; (b) около 20 мМ гистидина; (c) около 250 мМ сахарозы; (d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80; (e) около 50 мкМ пентетовой кислоты; (f) около 5 мМ метионина; и (g) около 2000 Ед/мл rHuPH20.

[0509] В некоторых аспектах анти-IL-15 антитело может быть сформулировано вместе с анти-PD-1 антителом в любом из составов, раскрытых в настоящем документе, как единый состав. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает: (a) около 150 мг/мл анти-PD-1 антитела; (b) около 20 мМ гистидина; (c) около 250 мМ сахарозы; (d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80; (e) около 50 мкМ пентетовой кислоты; (f) около 5 мМ метионина; и (g) анти-IL-15 антитело. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает: (a) около 150 мг/мл анти-PD-1 антитела; (b) около 20 мМ гистидина; (c) около 250 мМ сахарозы; (d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80; (e) около 50 мкМ пентетовой кислоты; (f) около 5 мМ метионина; (g) анти-IL-15 антитело; и (h) около 2000 Ед/мл rHuPH20.

[0510] В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает: (a) около 150 мг/мл ниволумаба; (b) около 20 мМ гистидина; (c) около 250 мМ сахарозы; (d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80; (e) около 50 мкМ пентетовой кислоты; (f) около 5 мМ метионина; и (g) анти-IL-15 антитело. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает: (a) около 150 мг/мл ниволумаба; (b) около 20 мМ гистидина; (c) около 250 мМ сахарозы; (d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80; (e) около 50 мкМ пентетовой кислоты; (f) около 5 мМ метионина; (g) анти-IL-15 антитело; и (h) около 2000 Ед/мл rHuPH20.

[0511] В некоторых аспектах антитело представляет собой мультиспецифическое антитело, например, биспецифическое антитело, которое специфично к (i) IL-15 и (ii) второму антигену. В некоторых аспектах антитело представляет собой мультиспецифическое антитело, например, биспецифическое антитело, которое специфично к (i) IL-15 и (ii) CD3.

II.A.15. Анти-SIRPalpha антитела

[0512] В некоторых аспектах второе антитело включает анти-SIRPalpha антитело. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает: (a) анти-SIRPalpha антитело; (b) около 20 мМ гистидина; (c) около 250 мМ сахарозы; (d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80; (e) около 50 мкМ пентетовой кислоты; и (f) около 5 мМ метионина. В определенных аспектах фармацевтическая композиция включает: (a) анти-SIRPalpha антитело; (b) около 20 мМ гистидина; (c) около 250 мМ сахарозы; (г)

около 0,05% масс./об. полисорбата 80; (d) около 50 мкМ пентетовой кислоты; (e) около 5 мМ метионина; и (g) около 2000 Ед/мл rHuPH20.

[0513] В некоторых аспектах анти-SIRPalpha антитело может быть сформулировано вместе с анти-PD-1 антителом в любом из составов, раскрытых в настоящем документе, как единый состав. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает: (a) около 150 мг/мл анти-PD-1 антитела; (b) около 20 мМ гистидина; (c) около 250 мМ сахарозы; (г) около 0,05% масс./об. полисорбата 80; (d) около 50 мкМ пентетовой кислоты; (e) около 5 мМ метионина; и (g) антитело анти-SIRPalpha. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает: (a) около 150 мг/мл анти-PD-1 антитела; (b) около 20 мМ гистидина; (c) около 250 мМ сахарозы; (d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80; (e) около 50 мкМ пентетовой кислоты; (f) около 5 мМ метионина; (g) антитело к SIRPalpha; и (h) около 2000 Ед/мл rHuPH20.

[0514] В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает: (a) около 150 мг/мл ниволумаба; (b) около 20 мМ гистидина; (c) около 250 мМ сахарозы; (d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80; (e) около 50 мкМ пентетовой кислоты; (f) около 5 мМ метионина; и (g) антитело к SIRPalpha. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает: (a) около 150 мг/мл ниволумаба; (b) около 20 мМ гистидина; (c) около 250 мМ сахарозы; (г) около 0,05% масс./об. полисорбата 80; (d) около 50 мкМ пентетовой кислоты; (e) около 5 мМ метионина; (g) антитело к SIRPalpha; и (h) около 2000 Ед/мл rHuPH20.

[0515] В некоторых аспектах антитело представляет собой мультиспецифическое антитело, например, биспецифическое антитело, которое специфично к (i) SIRPalpha и (ii) второму антигену. В некоторых аспектах антитело представляет собой мультиспецифическое антитело, например, биспецифическое антитело, которое специфично к (i) SIRPalpha и (ii) CD3.

II.A.17. Анти-CD47 антитела

[0516] В некоторых аспектах второе антитело включает анти-CD47 антитело. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает: (a) анти-CD47 антитело; (b) около 20 мМ гистидина; (c) около 250 мМ сахарозы; (d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80; (e) около 50 мкМ пентетовой кислоты; и (f) около 5 мМ метионина. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает: (a) анти-CD47 антитело; (b) около 20 мМ гистидина; (c) около 250 мМ сахарозы; (d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80; (e) около 50 мкМ пентетовой кислоты; (f) около 5 мМ метионина; и (g) около 2000 Ед/мл rHuPH20.

[0517] В некоторых аспектах анти-CD47 антитело может быть сформулировано вместе с анти-PD-1 антителом в любом из составов, раскрытых в настоящем документе, как единый состав. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает: (a) около 150 мг/мл анти-PD-1 антитела; (b) около 20 мМ гистидина; (c) около 250 мМ сахарозы; (d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80; (e) около 50 мкМ пентетовой кислоты; (f) около 5 мМ метионина; и (g) анти-CD47 антитело. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает: (a) около 150 мг/мл анти-PD-1 антитела; (b) около 20 мМ гистидина; (c) около 250 мМ сахарозы; (d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80; (e) около 50 мкМ пентетовой кислоты; (f) около 5 мМ метионина; (g) анти-CD47 антитело; и (h) около 2000 Ед/мл rHuPH20.

[0518] В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает: (a) около 150 мг/мл ниволумаба; (b) около 20 мМ гистидина; (c) около 250 мМ сахарозы; (d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80; (e) около 50 мкМ пентетовой кислоты; (f) около 5 мМ метионина; и (g) анти-CD47 антитело. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает: (a) около 150 мг/мл ниволумаба; (b) около 20 мМ гистидина; (c) около 250 мМ сахарозы; (d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80; (e) около 50 мкМ пентетовой кислоты; (f) около 5 мМ метионина; (g) анти-CD47 антитело; и (h) около 2000 Ед/мл rHuPH20.

[0519] В некоторых аспектах антитело представляет собой мультиспецифическое антитело, например, биспецифическое антитело, которое специфично к (i) CD47 и (ii) второму антигену. В некоторых аспектах антитело представляет собой мультиспецифическое антитело, например, биспецифическое антитело, которое специфично к (i) CD47 и (ii) CD3.

II.A.18. Анти-CCR8 антитела

[0520] В некоторых аспектах второе антитело включает анти-CCR8 антитело. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает: (a) анти-CCR8 антитело; (b) около 20 мМ гистидина; (c) около 250 мМ сахарозы; (d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80; (e) около 50 мкМ пентетовой кислоты; и (f) около 5 мМ метионина. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает: (a) анти-CCR8 антитело; (b) около 20 мМ гистидина; (c) около 250 мМ сахарозы; (d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80; (e) около 50 мкМ пентетовой кислоты; (f) около 5 мМ метионина; и (g) около 2000 Ед/мл rHuPH20.

[0521] В некоторых аспектах анти-CCR8 антитело может быть сформулировано вместе с анти-PD-1 антителом в любом из составов, раскрытых в

настоящем документе, как единый состав. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает: (a) около 150 мг/мл анти-PD-1 антитела; (b) около 20 мМ гистидина; (c) около 250 мМ сахарозы; (d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80; (e) около 50 мкМ пентетовой кислоты; (f) около 5 мМ метионина; и (g) анти-CCR8 антитело. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает: (a) около 150 мг/мл анти-PD-1 антитела; (b) около 20 мМ гистидина; (c) около 250 мМ сахарозы; (d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80; (e) около 50 мкМ пентетовой кислоты; (f) около 5 мМ метионина; (g) анти-CCR8 антитело; и (h) около 2000 Ед/мл rHuPH20.

[0522] В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает: (a) около 150 мг/мл ниволумаба; (b) около 20 мМ гистидина; (c) около 250 мМ сахарозы; (d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80; (e) около 50 мкМ пентетовой кислоты; (f) около 5 мМ метионина; и (g) анти-CCR8 антитело. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает: (a) около 150 мг/мл ниволумаба; (b) около 20 мМ гистидина; (c) около 250 мМ сахарозы; (d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80; (e) около 50 мкМ пентетовой кислоты; (f) около 5 мМ метионина; (g) анти-CCR8 антитело; и (h) около 2000 Ед/мл rHuPH20.

[0523] В некоторых аспектах антитело представляет собой мультиспецифическое антитело, например, биспецифическое антитело, которое специфично к (i) CCR8 и (ii) второму антигену. В некоторых аспектах антитело представляет собой мультиспецифическое антитело, например, биспецифическое антитело, которое специфично к (i) CCR8 и (ii) CD3.

II.A.19. Анти-MICA антитела

[0524] В некоторых аспектах второе антитело включает анти-MICA антитело. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает: (a) анти-MICA антитело; (b) около 20 мМ гистидина; (c) около 250 мМ сахарозы; (d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80; (e) около 50 мкМ пентетовой кислоты; и (f) около 5 мМ метионина. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает: (a) анти-MICA антитело; (b) около 20 мМ гистидина; (c) около 250 мМ сахарозы; (d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80; (e) около 50 мкМ пентетовой кислоты; (f) около 5 мМ метионина; и (g) около 2000 Ед/мл rHuPH20.

[0525] В некоторых аспектах анти-MICA антитело может быть сформулировано вместе с анти-PD-1 антителом в любом из составов, раскрытых в настоящем документе, как единый состав. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает: (a) около 150 мг/мл анти-PD-1 антитела; (b) около 20 мМ

гистидина; (c) около 250 мМ сахарозы; (d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80; (e) около 50 мкМ пентетовой кислоты; (f) около 5 мМ метионина; и (g) анти-MICA антитело. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает: (a) около 150 мг/мл анти-PD-1 антитела; (b) около 20 мМ гистидина; (c) около 250 мМ сахарозы; (d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80; (e) около 50 мкМ пентетовой кислоты; (f) около 5 мМ метионина; (g) анти-MICA антитело; и (h) около 2000 Ед/мл rHuPH20.

[0526] В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает: (a) около 150 мг/мл ниволумаба; (b) около 20 мМ гистидина; (c) около 250 мМ сахарозы; (d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80; (e) около 50 мкМ пентетовой кислоты; (f) около 5 мМ метионина; и (g) анти-MICA антитело. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает: (a) около 150 мг/мл ниволумаба; (b) около 20 мМ гистидина; (c) около 250 мМ сахарозы; (d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80; (e) около 50 мкМ пентетовой кислоты; (f) около 5 мМ метионина; (g) анти-MICA антитело; и (h) около 2000 Ед/мл rHuPH20.

[0527] В некоторых аспектах антитело представляет собой мультиспецифическое антитело, например, биспецифическое антитело, которое специфично к (i) MICA и (ii) второму антигену. В некоторых аспектах антитело представляет собой мультиспецифическое антитело, например, биспецифическое антитело, которое специфично к (i) MICA и (ii) CD3.

II.A.20. Анти-ILT4 антитела

[0528] В некоторых аспектах второе антитело включает анти-ILT4 антитело. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает: (a) анти-ILT4 антитело; (b) около 20 мМ гистидина; (c) около 250 мМ сахарозы; (d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80; (e) около 50 мкМ пентетовой кислоты; и (f) около 5 мМ метионина. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает: (a) анти-ILT4 антитело; (b) около 20 мМ гистидина; (c) около 250 мМ сахарозы; (d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80; (e) около 50 мкМ пентетовой кислоты; (f) около 5 мМ метионина; и (g) около 2000 Ед/мл rHuPH20.

[0529] В некоторых аспектах анти-ILT4 антитело может быть сформулировано вместе с анти-PD-1 антителом в любом из составов, раскрытых в настоящем документе, как единый состав. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает: (a) около 150 мг/мл анти-PD-1 антитела; (b) около 20 мМ гистидина; (c) около 250 мМ сахарозы; (d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80; (e) около 50 мкМ пентетовой кислоты; (f) около 5 мМ метионина; и (g) анти-ILT4 антитело. В некоторых

аспектах фармацевтическая композиция включает: (a) около 150 мг/мл анти-PD-1 антитела; (b) около 20 мМ гистидина; (c) около 250 мМ сахарозы; (d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80; (e) около 50 мкМ пентетовой кислоты; (f) около 5 мМ метионина; (g) анти-ILT4 антитело; и (h) около 2000 Ед/мл rHuPH20.

[0530] В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает: (a) около 150 мг/мл ниволумаба; (b) около 20 мМ гистидина; (c) около 250 мМ сахарозы; (d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80; (e) около 50 мкМ пентетовой кислоты; (f) около 5 мМ метионина; и (g) анти-ILT4 антитело. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает: (a) около 150 мг/мл ниволумаба; (b) около 20 мМ гистидина; (c) около 250 мМ сахарозы; (d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80; (e) около 50 мкМ пентетовой кислоты; (f) около 5 мМ метионина; (g) анти-ILT4 антитело; и (h) около 2000 Ед/мл rHuPH20.

[0531] В некоторых аспектах антитело представляет собой мультиспецифическое антитело, например, биспецифическое антитело, которое специфично к (i) ILT4 и (ii) второму антигену. В некоторых аспектах антитело представляет собой мультиспецифическое антитело, например, биспецифическое антитело, которое специфично к (i) ILT4 и (ii) CD3.

II.B. Гидролазный фермент эндогликозидаза

[0532] В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает гидролазный фермент эндогликозидазу. Любой гидролазный фермент эндогликозидаза может быть использован в фармацевтических композициях и способах, раскрытых в настоящем документе. В некоторых аспектах гидролазный фермент эндогликозидаза расщепляет гиалуроновую кислоту по гексозаминидной β (1-4) или (1-3) связи. В некоторых аспектах гидролазный фермент эндогликозидаза включает каталитический домен гиалуронидазы PH-20 (HuPH20), HYAL1, HYAL2, HYAL3, HYAL4 или HYALPS1.

[0533] В некоторых аспектах гидролазный фермент эндогликозидаза включает гиалуронидазу. В некоторых аспектах гидролазный фермент эндогликозидаза включает гиалуронидазу, выбранную из группы, состоящей из HuPH20, HYAL1, HYAL2, HYAL3, HYAL4, любого варианта и любой их изоформы. В некоторых аспектах гидролазный фермент эндогликозидаза включает rHuPH20 или его фрагмент. В некоторых аспектах гидролазный фермент эндогликозидаза включает аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере около 70%, по меньшей мере около 75%, по меньшей мере около 80%, по меньшей мере около 85%,

по меньшей мере около 90%, по меньшей мере около 95%, по меньшей мере около 96%, по меньшей мере около 97%, по меньшей мере около 98%, по меньшей мере около 99% или около 100% идентичности последовательности аминокислот 36-490 SEQ ID NO: 1. В некоторых аспектах гидролазный фермент эндогликозидаза включает каталитический домен rHuPH20 (UniProt ID No. P38567-1). В некоторых аспектах гидролазный фермент эндогликозидаза включает зрелый пептид rHuPH20 (аминокислоты 36-490 из SEQ ID NO: 1).

Таблица 1B: Аминокислотная последовательность rHuPH20

MGVLKFKHIFFRSFVKSSGVSQIVFTFLLIPCCLT**LNFRAPPVIPNVPFLWAWNAPSEFCLGKFDEPLDMSLFSFI**
GSPRINATGQGVTIFYVDRLGYYPYIDSITGVTVNGGIPQKISLQDHLDKAKKDITFYMPVDNLGMAVIDWEEWRP
TWARNWKPKDVYKNRSIELVQQQNVQLSLTEATEKAKQEFEKAGKDFLVETIKLGKLLRPNHLWGYYLFPDCYNHH
YKKPGYNGSCFNVEIKRNDDLSWLWNESTALYPSIYLNTQQSPVAATLYVRNRVREAIRVSKIPDAKSPLPVFAYT
RIVFTDQVLKFLSQDELVYTFGETVALGASGIVIWGTLSIMRSMKSCLLLDNYMETILNPYIINVTLAAKMCSQVL
CQEQGVCIRKNWNSSDYLHLNPDNFAIQLEKGGKFTVRGKPTLEDLEQFSEKFYCSCYSTLSCKEKADVKDTDAVD
VCIADGVCIDAFLKPPMETEEPQIFYNASPSTLS*ATMFIVSILFLIISSVASL* (SEQ ID NO: 1)

Сигнальный пептид: подчеркнут; зрелый белок: жирный шрифт; пропептид: курсив.

[0534] В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает технологию доставки лекарств ENHANZE® компании Halozyme Therapeutics (*см.* патент США № 7,767,429, который включен в настоящий документ в полном объеме посредством ссылки). ENHANZE® использует совместное составление антитела с рекомбинантным ферментом гиалуронидазы человека (rHuPH20), что снимает традиционные ограничения на объем биопрепаратов и лекарств, которые могут быть доставлены подкожно, обусловленные наличием внеклеточного матрикса (*см.* патент США № 7,767,429). В некоторых аспектах фармацевтическая композиция по настоящему раскрытию может дополнительно включать рекомбинантный фермент гиалуронидазы человека, например, rHuPH20.

[0535] Рекомбинантная человеческая гиалуронидаза PH20 (rHuPH20, Halozyme Therapeutics Inc.) представляет собой гликозилированный 447-аминокислотный одноцепочечный рекомбинантный человеческий полипептид, который деполимеризует гиалуронан в подкожном (subcutaneous (SC)) пространстве локально в месте инъекции. Гиалуронан представляет собой повторяющийся полимер N-ацетил-глюкозамина и глюкуроновой кислоты, входящий в состав растворимого гелеобразного компонента внеклеточного матрикса кожи. Деполимеризация гиалуронана под действием rHuPH20 приводит к временному снижению вязкости гелеобразной фазы внеклеточного матрикса и увеличению гидравлической проводимости, что облегчает дисперсию и абсорбцию вводимых лекарственных

средств (см. rHuPH20 IB). Применение rHuPH20 позволяет доставлять большие объемы для быстрых SC инъекций (например, приблизительно от 2 мл до 20 мл), что может сократить время введения дозы, уменьшить частоту введения и обеспечить потенциальные улучшения фармакокинетических (PK) профилей совместно вводимых препаратов, включая улучшение всасывания, увеличение биодоступности, ускорение времени достижения максимальной концентрации (Tmax), увеличение максимальной концентрации (Cmax) и снижение PK вариабельности.

[0536] Период полураспада rHuPH20 в коже составляет менее 30 минут, и местный барьер проницаемости в данных тканях восстанавливается до прединъекционного уровня в течение 24-48 часов после введения гиалуронидазы. Исследование показало, что rHuPH20 не обнаруживается системно у здоровых добровольцев и пациентов после подкожного введения в дозах 10000 ЕД и 30000 ЕД. Другое исследование PK rHuPH20 (Halozyme Study HALO-104-104) показало, что концентрация rHuPH20 в плазме быстро снижается, с очень коротким t1/2 ($\leq$ 10,4 мин), и концентрация в плазме становилась необнаруживаемой (<0,03 нг/мл) в течение 1,5 часа после окончания внутривенной инфузии при внутривенных дозах 10000 или 30000 единиц rHuPH20.

[0537] Подкожная инъекция rHuPH20 обычно хорошо переносится здоровыми участниками, обезвоженными педиатрическими участниками, участниками хосписного и паллиативного ухода, участниками с диабетом 1-го и 2-го типа и участниками с ревматоидным артритом. Подкожные инъекции rHuPH20, отдельно или совместно с лактированным раствором Рингера, нормальным физиологическим раствором, совместно вводимыми препаратами (морфин, цефтриаксон, инсулин и аналоги инсулина) или биологическими продуктами (иммуноглобулин G [IgG] и адалимумаб), хорошо переносились.

[0538] В некоторых аспектах гидролазный фермент эндогликозидаза включает модифицированную гиалуронидазу, содержащую одну или более аминокислотных замен по отношению к гиалуронидазе дикого типа, выбранной из группы, состоящей из HuPH20, HYAL1, HYAL2, HYAL3, HYAL4, HYALPS1 или их фрагмента. В некоторых аспектах гидролазный фермент эндогликозидаза включает модифицированную гиалуронидазу, включающую одну или более аминокислотных замен в альфа-спиральной области относительно гиалуронидазы дикого типа, выбранной из группы, состоящей из HuPH20, HYAL1, HYAL2, HYAL3, HYAL4, HYALPS1 или их фрагмента. В некоторых аспектах гидролазный фермент

эндогликозидаза включает модифицированную гиалуронидазу, содержащую одну или более аминокислотных замен в линкерной области по отношению к гиалуронидазе дикого типа, выбранной из группы, состоящей из HuPH20, HYAL1, HYAL2, HYAL3, HYAL4, HYALPS1 или их фрагмента. В некоторых аспектах гидролазный фермент эндогликозидаза включает модифицированную гиалуронидазу, в которой одна или более N-концевых и/или C-концевых аминокислот удалены относительно гиалуронидазы дикого типа, выбранной из группы, состоящей из HuPH20, HYAL1, HYAL2, HYAL3, HYAL4, HYALPS1 или их фрагмента.

[0539] В некоторых аспектах гидролазный фермент эндогликозидаза включает модифицированный rHuPH20, где модифицированный rHuPH20 включает одну или более аминокислотных замен в области альфа-спирали, области линкера или как области альфа-спирали, так и области линкера по сравнению с rHuPH20 дикого типа. В некоторых аспектах гидролазный фермент эндогликозидаза включает модифицированный rHuPH20, где модифицированный rHuPH20 включает делецию одной или более N-концевой аминокислоты, одной или более C-концевой аминокислоты, или одной или более N-концевой аминокислоты и одной или более C-концевой аминокислоты относительно rHuPH20 дикого типа. В некоторых аспектах гидролазный фермент эндогликозидаза включает модифицированный rHuPH20, где модифицированный rHuPH20 включает одну или более аминокислотных замен в альфа-спиральной области, линкерной области или как в альфа-спиральной области, так и в линкерной области относительно rHuPH20 дикого типа; и где модифицированный rHuPH20 включает делецию одной или более N-концевой аминокислоты, одной или более C-концевой аминокислоты, или одной или более N-концевой аминокислоты и одной или более C-концевой аминокислоты относительно rHuPH20 дикого типа.

[0540] Дополнительные, не ограничивающие примеры эндогликозидазных гидролазных ферментов приведены в EP3636752, который включен в настоящий документ посредством ссылки во всей своей полноте.

[0541] В некоторых аспектах гидролазный фермент эндогликозидаза представляет собой любой полипептид, обладающий активностью гидролазного фермента эндогликозидазы, раскрытой в патентах США №№ US 9,447,401; US 10,865,400; US 11,041,149; US 11,066,656; US 8,927,249; US 9,284,543; US 10,588,983; US 10/328,130; и/или US 9,993,529, каждый из которых включен в настоящий документ посредством ссылки во всей своей полноте. В некоторых аспектах гидролазный

фермент эндогликозидаза представляет собой любой полипептид, обладающий активностью гидролазного фермента эндогликозидазы, раскрытой в международных публикациях № WO/13/102144, WO/10/077297, WO/15/003167, WO/04/078140 WO/09/128917, WO/12/174478, и/или WO/12/174480, каждая из которых включена в настоящий документ посредством ссылки во всей своей полноте. В некоторых аспектах гидролазный фермент эндогликозидаза включает аминокислотную последовательность, по меньшей мере на около 70%, по меньшей мере на около 75%, по меньшей мере на около 80%, по меньшей мере на около 85%, по меньшей мере на около 90%, по меньшей мере на около 95%, по меньшей мере на около 96%, по меньшей мере на около 97%, по меньшей мере на около 98%, по меньшей мере на около 99% или на около 100% идентичную аминокислотной последовательности, выбранной из аминокислотных последовательностей, представленных в SEQ ID NO: 5-52 и 264. В некоторых аспектах гидролазный фермент эндогликозидаза включает аминокислотную последовательность, выбранную из аминокислотных последовательностей, представленных в SEQ ID NO: 5-52 и 264.

[0542] В некоторых аспектах гидролазный фермент эндогликозидаза представляет собой любой полипептид, обладающий активностью гидролазного фермента эндогликозидазы, раскрытой в публикации заявки на патент США № US2021155913A1 и/или US2021363270A1; и/или в международных публикациях №№ WO/20/022791, WO/20/197230 и/или WO/21/150079; каждая из которых включена в настоящий документ посредством ссылки во всей своей полноте. В некоторых аспектах гидролазный фермент эндогликозидаза включает аминокислотную последовательность, по меньшей мере на около 70%, по меньшей мере на около 75%, по меньшей мере на около 80%, по меньшей мере на около 85%, по меньшей мере на около 90%, по меньшей мере на около 95%, по меньшей мере на около 96%, по меньшей мере на около 97%, по меньшей мере на около 98%, по меньшей мере на около 99% или на около 100% идентичную аминокислотной последовательности, выбранной из аминокислотных последовательностей, представленных в SEQ ID NO: 53-263. В некоторых аспектах гидролазный фермент эндогликозидаза включает аминокислотную последовательность, по меньшей мере на около 70%, по меньшей мере на около 75%, по меньшей мере на около 80%, по меньшей мере на около 85%, по меньшей мере на около 90%, по меньшей мере на около 95%, по меньшей мере на около 96%, по меньшей мере на около 97%, по меньшей мере на около 98%, по меньшей мере на около 99% или на около 100% идентичную аминокислотной

последовательности, представленной в SEQ ID NO: 92. В некоторых аспектах гидролазный фермент эндогликозидаза включает аминокислотную последовательность, выбранную из аминокислотных последовательностей, представленных в SEQ ID NO: 53-263. В некоторых аспектах гидролазный фермент эндогликозидаза включает аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 92. В некоторых аспектах гидролазный фермент эндогликозидаза представляет собой HP46 (SEQ ID NO: 44 из международной публикации № WO/20/197230).

[0543] В некоторых аспектах фармацевтическая композиция, раскрытая в настоящем документе, включает гиалуронидазу. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает достаточную концентрацию гиалуронидазы для введения по меньшей мере около 20000 единиц гиалуронидазы. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает достаточную концентрацию гиалуронидазы для введения по меньшей мере около 50000 единиц гиалуронидазы. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает достаточную концентрацию гиалуронидазы для введения по меньшей мере около 75000 единиц гиалуронидазы. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает достаточную концентрацию гиалуронидазы для введения по меньшей мере около 100000 единиц гиалуронидазы. В некоторых аспектах гиалуронидаза представляет собой rHuPH20. В других аспектах фармацевтическая композиция не включает гиалуронидазу.

[0544] В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает от по меньшей мере около 50 единиц до по меньшей мере около 48000 единиц гидролазного фермента эндогликозидазы (например, rHuPH20). В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает от по меньшей мере около 50 Ед/мл до по меньшей мере около 5000 Ед/мл гидролазного фермента эндогликозидазы (например, rHuPH20). В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает по меньшей мере около 50 Ед/мл, по меньшей мере около 100 Ед/мл, по меньшей мере около 150 Ед/мл, по меньшей мере около 200 Ед/мл, по меньшей мере около 250 Ед/мл, по меньшей мере около 300 Ед/мл, по меньшей мере около 350 Ед/мл, по меньшей мере около 400 Ед/мл, по меньшей мере около 450 Ед/мл, по меньшей мере около 500 Ед/мл, по меньшей мере около 750 Ед/мл, по меньшей мере около 1000 Ед/мл, по меньшей мере около 1500 Ед/мл, по меньшей мере около 2000 Ед/мл, по меньшей мере около 2500 Ед/мл, по меньшей мере около 3000 Ед/мл, по меньшей мере около 3500 Ед/мл,

по меньшей мере около 4000 Ед/мл, по меньшей мере около 4500 Ед/мл, по меньшей мере около 5000 Ед/мл, по меньшей мере около 5500 Ед/мл, по меньшей мере около 6000 Ед/мл, по меньшей мере около 6500 Ед/мл, по меньшей мере около 7000 Ед/мл, по меньшей мере около 7500 Ед/мл, по меньшей мере около 8000 Ед/мл, по меньшей мере около 8500 Ед/мл, по меньшей мере около 9000 Ед/мл, по меньшей мере около 9500 Ед/мл, по меньшей мере около 10000 Ед/мл гидролазного фермента эндогликозидазы (например, rHuPH20). В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает по меньшей мере около 500 Ед/мл гидролазного фермента эндогликозидазы (например, rHuPH20). В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает по меньшей мере около 1000 Ед/мл гидролазного фермента эндогликозидазы (например, rHuPH20). В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает по меньшей мере около 2000 Ед/мл гидролазного фермента эндогликозидазы (например, rHuPH20). В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает по меньшей мере около 2500 Ед/мл гидролазного фермента эндогликозидазы (например, rHuPH20). В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает по меньшей мере около 3000 Ед/мл гидролазного фермента эндогликозидазы (например, rHuPH20). В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает по меньшей мере около 3500 Ед/мл гидролазного фермента эндогликозидазы (например, rHuPH20). В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает по меньшей мере около 4000 Ед/мл гидролазного фермента эндогликозидазы (например, rHuPH20). В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает по меньшей мере около 4500 Ед/мл гидролазного фермента эндогликозидазы (например, rHuPH20). В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает по меньшей мере около 5000 Ед/мл гидролазного фермента эндогликозидазы (например, rHuPH20). В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает по меньшей мере около 6000 Ед/мл гидролазного фермента эндогликозидазы (например, rHuPH20). В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает по меньшей мере около 7000 Ед/мл гидролазного фермента эндогликозидазы (например, rHuPH20). В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает по меньшей мере около 8000 Ед/мл гидролазного фермента эндогликозидазы (например, rHuPH20). В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает по меньшей мере около 9000 Ед/мл гидролазного фермента эндогликозидазы (например, rHuPH20). В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает по меньшей мере около 10000 Ед/мл гидролазного фермента

эндогликозидазы (например, rHuPH20).

[0545] В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает от по меньшей мере около 50 единиц до по меньшей мере около 100000 единиц гидролазного фермента эндогликозидазы (например, rHuPH20). В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает от по меньшей мере около 500 единиц до по меньшей мере около 100000 единиц гидролазного фермента эндогликозидазы (например, rHuPH20). В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает по меньшей мере около 50 единиц, по меньшей мере около 100 единиц, по меньшей мере около 150 единиц, по меньшей мере около 200 единиц, по меньшей мере около 250 единиц, по меньшей мере около 300 единиц, по меньшей мере около 400 единиц, по меньшей мере около 500 единиц, по меньшей мере около 600 единиц, по меньшей мере около 700 единиц, по меньшей мере около 800 единиц, по меньшей мере около 900 единиц, по меньшей мере около 1000 единиц, по меньшей мере около 1500 единиц, по меньшей мере около 2000 единиц, по меньшей мере около 2500 единиц, по меньшей мере около 3000 единиц, по меньшей мере около 4000 единиц, по меньшей мере около 5000 единиц, по меньшей мере около 10000 единиц, по меньшей мере около 15000 единиц, по меньшей мере около 20000 единиц, по меньшей мере около 25000 единиц, по меньшей мере около 30000 единиц, по меньшей мере около 3000 единиц, по меньшей мере около 40000 единиц, по меньшей мере около 45000 единиц, по меньшей мере около 48000 единиц, по меньшей мере около 50000 единиц, по меньшей мере около 55000 единиц, по меньшей мере около 60000 единиц, по меньшей мере около 65000 единиц, по меньшей мере около 70000 единиц, по меньшей мере около 75000 единиц, по меньшей мере около 80000 единиц, по меньшей мере около 85000 единиц, по меньшей мере около 90000 единиц, по меньшей мере около 95000 единиц или по меньшей мере около 100000 единиц гидролазного фермента эндогликозидазы (например, rHuPH20). В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает по меньшей мере около 20000 единиц гидролазного фермента эндогликозидазы (например, rHuPH20). В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает по меньшей мере около 30000 единиц гидролазного фермента эндогликозидазы (например, rHuPH20). В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает по меньшей мере около 40000 единиц гидролазного фермента эндогликозидазы (например, rHuPH20). В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает по меньшей мере около 50000 единиц гидролазного фермента эндогликозидазы (например, rHuPH20). В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает

по меньшей мере около 60000 единиц гидролазного фермента эндогликозидазы (например, rHuPH20). В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает по меньшей мере около 70000 единиц гидролазного фермента эндогликозидазы (например, rHuPH20). В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает по меньшей мере около 80000 единиц гидролазного фермента эндогликозидазы (например, rHuPH20). В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает по меньшей мере около 90000 единиц гидролазного фермента эндогликозидазы (например, rHuPH20). В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает по меньшей мере около 100000 единиц гидролазного фермента эндогликозидазы (например, rHuPH20).

[0546] Специалисту в данной области техники будет легко понять, что количество гидролазного фермента эндогликозидазы (например, rHuPH20) может быть выражено в единицах или Ед/мл или количество гидролазного фермента эндогликозидазы (например, rHuPH20) может быть выражено в мг/мл (или в других единицах, основанных на массе). Например, в некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает количество гидролазного фермента эндогликозидазы (например, rHuPH20), выраженное в виде по меньшей мере около 500 Ед/мл или по меньшей мере около 0,00455 мг/мл. В другом примере, в некоторых аспектах, фармацевтическая композиция включает количество гидролазного фермента эндогликозидазы (например, rHuPH20), выраженное в виде по меньшей мере около 2000 Ед/мл или по меньшей мере около 0,0182 мг/мл.

[0547] В определенных аспектах фармацевтическая композиция включает: (a) около 120 мг/мл антитела или его антигенсвязывающей части (например, анти-PD-1 антитело, например, ниволумаб или пембролизумаб); (b) около 20 мМ гистидина; (c) около 250 мМ сахарозы; (d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80; (e) около 50 мкМ пентетовой кислоты; (f) около 5 мМ метионина и (g) около 2000 Ед/мл rHuPH20. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает: (a) около 120 мг/мл ниволумаба; (b) около 20 мМ гистидина; (c) около 250 мМ сахарозы; (d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80; (e) около 50 мкМ пентетовой кислоты; (f) около 5 мМ метионина и (g) около 2000 Ед/мл rHuPH20. В определенных аспектах фармацевтическая композиция включает: (a) около 120 мг/мл антитела или его антигенсвязывающей части (например, анти-PD-1 антитела, например, ниволумаб или пембролизумаб); (b) около 20 мМ гистидина; (c) около 250 мМ сахарозы; (d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80; (e) около 50 мкМ пентетовой кислоты; (f) около 5 мМ

метионина, и (g) около 0,0182 мг/мл rHuPH20. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает: (a) около 120 мг/мл ниволумаба; (b) около 20 мМ гистидина; (c) около 250 мМ сахарозы; (d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80; (e) около 50 мкМ пентетовой кислоты; (f) около 5 мМ метионина и (g) около 0,0182 мг/мл rHuPH20.

[0548] В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает: (a) около 150 мг/мл антитела или его антигенсвязывающей части (например, анти-PD-1 антитело, например, ниволумаб или пембролизумаб); (b) около 20 мМ гистидина; (c) около 250 мМ сахарозы; (d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80; (e) около 50 мкМ пентетовой кислоты; (f) около 5 мМ метионина, и (g) около 2000 Ед/мл rHuPH20. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает: (a) около 150 мг/мл ниволумаба; (b) около 20 мМ гистидина; (c) около 250 мМ сахарозы; (d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80; (e) около 50 мкМ пентетовой кислоты; (f) около 5 мМ метионина и (g) около 2000 Ед/мл rHuPH20. В определенных аспектах фармацевтическая композиция включает: (a) около 150 мг/мл антитела или его антигенсвязывающей части (например, анти-PD-1 антитела, например, ниволумаб или пембролизумаб); (b) около 20 мМ гистидина; (c) около 250 мМ сахарозы; (d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80; (e) около 50 мкМ пентетовой кислоты; (f) около 5 мМ метионина, и (g) около 0,0182 мг/мл rHuPH20. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает: (a) около 150 мг/мл ниволумаба; (b) около 20 мМ гистидина; (c) около 250 мМ сахарозы; (d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80; (e) около 50 мкМ пентетовой кислоты; (f) около 5 мМ метионина и (g) около 0,0182 мг/мл rHuPH20.

[0549] В определенных аспектах единичная доза, описанная в настоящем документе, включает: (a) около 120 мг/мл антитела или его антигенсвязывающей части (например, анти-PD-1 антитела, например, ниволумаб или пембролизумаб); (b) около 20 мМ гистидина; (c) около 250 мМ сахарозы; (d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80; (e) около 50 мкМ пентетовой кислоты; (f) около 5 мМ метионина и (g) около 2000 Ед/мл rHuPH20. В некоторых аспектах единичная доза, описанная в настоящем документе, включает: (a) около 120 мг/мл ниволумаба; (b) около 20 мМ гистидина; (c) около 250 мМ сахарозы; (d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80; (e) около 50 мкМ пентетовой кислоты; (f) около 5 мМ метионина и (g) около 2000 Ед/мл rHuPH20. В определенных аспектах единичная доза, описанная в настоящем документе, включает: (a) около 120 мг/мл антитела или его антигенсвязывающей части (например, анти-PD-

1 антитела, например, ниволумаб или пембролизумаб); (b) около 20 мМ гистидина; (c) около 250 мМ сахарозы; (d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80; (e) около 50 мкМ пентетовой кислоты; (f) около 5 мМ метионина и (g) около 0,0182 мг/мл rHuPH20. В некоторых аспектах единичная доза, описанная в настоящем документе, включает: (a) около 120 мг/мл ниволумаба; (b) около 20 мМ гистидина; (c) около 250 мМ сахарозы; (d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80; (e) около 50 мкМ пентетовой кислоты; (f) около 5 мМ метионина и (g) около 0,0182 мг/мл rHuPH20.

[0550] В определенных аспектах единичная доза, описанная в настоящем документе, включает: (a) около 150 мг/мл антитела или его антигенсвязывающей части (например, анти-PD-1 антитела, например, ниволумаб или пембролизумаб); (b) около 20 мМ гистидина; (c) около 250 мМ сахарозы; (d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80; (e) около 50 мкМ пентетовой кислоты; (f) около 5 мМ метионина и (g) около 2000 Ед/мл rHuPH20. В определенных аспектах единичная доза, описанная в настоящем документе, включает: (a) около 150 мг/мл ниволумаба; (b) около 20 мМ гистидина; (c) около 250 мМ сахарозы; (d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80; (e) около 50 мкМ пентетовой кислоты; (f) около 5 мМ метионина и (g) около 2000 Ед/мл rHuPH20. В определенных аспектах единичная доза, описанная в настоящем документе, включает: (a) около 150 мг/мл антитела или его антигенсвязывающей части (например, анти-PD-1 антитела, например, ниволумаб или пембролизумаб); (b) около 20 мМ гистидина; (c) около 250 мМ сахарозы; (d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80; (e) около 50 мкМ пентетовой кислоты; (f) около 5 мМ метионина и (g) около 0,0182 мг/мл rHuPH20. В некоторых аспектах единичная доза, описанная в настоящем документе, включает: (a) около 150 мг/мл ниволумаба; (b) около 20 мМ гистидина; (c) около 250 мМ сахарозы; (d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80; (e) около 50 мкМ пентетовой кислоты; (f) около 5 мМ метионина и (g) около 0,0182 мг/мл rHuPH20.

[0551] В определенных аспектах фармацевтическая композиция включает (a) около 672 мг ниволумаба; (b) около 8,68 мг L-гистидина; (c) около 11,8 мг гистидина HCl H2O; (d) около 479 мг сахарозы; (e) около 2,80 мг полисорбата 80; (f) около 0,110 мг пентетовой кислоты; (g) около 4,18 мг метионина; (h) около 0,102 мг rHuPH20; где (a)-(h) восстанавливаются в воде до конечного объема по меньшей мере около 5,6 мл.

II.C. Антиоксиданты

[0552] В некоторых аспектах фармацевтическая композиция дополнительно включает антиоксидант. Любой антиоксидант может быть использован в фармацевтических композициях, раскрытых в настоящем документе. В некоторых

аспектах антиоксидант выбран из метионина, триптофана и гистидина, цистеина, аскорбиновой кислоты, глицина, пентетовой кислоты (DTPA) и EDTA. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает по меньшей мере два антиоксиданта. В некоторых аспектах по меньшей мере один из по меньшей мере двух антиоксидантов является «жертвуемым» антиоксидантом. Любой «жертвуемый» антиоксидант может быть использован в фармацевтических композициях и способах, раскрытых в настоящем документе. В некоторых аспектах «жертвуемый» антиоксидант выбран из группы, состоящей из метионина, триптофана и гистидина, цистеина, аскорбиновой кислоты, глицина или других «жертвуемых» агентов. В некоторых аспектах по меньшей мере один из по меньшей мере двух антиоксидантов включает хелатор ионов металлов. Любой хелатор ионов металлов может быть использован в фармацевтических композициях и способах, раскрытых в настоящем документе. В некоторых аспектах хелатор ионов металлов представляет собой пентетовую кислоту ("DTPA") или EDTA.

[0553] В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает метионин. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает по меньшей мере два антиоксиданта. В некоторых аспектах по меньшей мере два антиоксиданта выбраны из метионина, DTPA и EDTA. В некоторых аспектах по меньшей мере два антиоксиданта выбраны из метионина, DTPA и EDTA. В некоторых аспектах по меньшей мере два антиоксиданта включают метионин и EDTA. В некоторых аспектах по меньшей мере два антиоксиданта включают метионин и пентетовую кислоту (DTPA).

[0554] В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает антитело или его антигенсвязывающий участок (например, анти-PD-1 антитело, например, ниволумаб или пембролизумаб), метионин и пентетовую кислоту (DTPA). В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает от по меньшей мере около 0,1 мМ до по меньшей мере около 100 мМ метионина. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает от по меньшей мере около 1 мМ до по меньшей мере около 20 мМ, от по меньшей мере около 1 мМ до по меньшей мере около 15 мМ, от по меньшей мере около 1 мМ до по меньшей мере около 10 мМ, от по меньшей мере около 1 мМ до по меньшей мере около 5 мМ, от по меньшей мере около 5 мМ до по меньшей мере около 20 мМ, от по меньшей мере около 5 мМ до по меньшей мере около 15 мМ, от по меньшей мере 5 мМ до по меньшей мере 10 мМ, от по меньшей мере 2 мМ до по меньшей мере 9 мМ, от по меньшей мере 3 мМ до по

меньшей мере 8 мМ, от по меньшей мере 4 мМ до по меньшей мере 7 мМ, или от по меньшей мере 4 мМ до по меньшей мере 6 мМ, от по меньшей мере 4 мМ до по меньшей мере 5 мМ, от по меньшей мере 5 мМ до по меньшей мере 6 мМ, от по меньшей мере 5 мМ до по меньшей мере 7 мМ метионина. В некоторых аспектах фармацевтические композиции включают по меньшей мере около 1 мМ, по меньшей мере около 1,5 мМ, по меньшей мере около 2 мМ, по меньшей мере около 2,5 мМ, по меньшей мере около 3 мМ, по меньшей мере около 3,5 мМ, по меньшей мере около 4 мМ, по меньшей мере около 4,5 мМ, по меньшей мере около 5 мМ, по меньшей мере около 5,5 мМ, по меньшей мере около 6 мМ, по меньшей мере около 6,5 мМ, по меньшей мере около 7 мМ, по меньшей мере около 7,5 мМ, по меньшей мере около 8 мМ, по меньшей мере около 8,5 мМ, по меньшей мере около 9 мМ, по меньшей мере около 9,5 мМ или по меньшей мере около 10 мМ, по меньшей мере около 11 мМ, по меньшей мере около 12 мМ, по меньшей мере около 13 мМ, по меньшей мере около 14 мМ, по меньшей мере около 15 мМ, по меньшей мере около 16 мМ, по меньшей мере около 17 мМ, по меньшей мере около 18 мМ, по меньшей мере около 19 мМ или по меньшей мере около 20 мМ метионина. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает по меньшей мере около 10 мМ метионина. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает по меньшей мере около 9 мМ метионина. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает по меньшей мере около 8 мМ метионина. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает по меньшей мере около 7 мМ метионина. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает по меньшей мере около 6 мМ метионина. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает по меньшей мере около 5 мМ метионина. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает по меньшей мере около 4 мМ метионина. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает по меньшей мере около 3 мМ метионина. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает по меньшей мере около 2 мМ метионина. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает по меньшей мере около 1 мМ метионина.

[0555] В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает по меньшей мере от около 1 мкМ до по меньшей мере около 250 мкМ пентетовой кислоты (DTPA). В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает от по меньшей мере около 10 мкМ до по меньшей мере около 200 мкМ, от по меньшей мере около 10 мкМ до по меньшей мере около 175 мкМ, от по меньшей мере около 10 мкМ до по

меньшей мере около 150 мкМ, от по меньшей мере около 10 мкМ до по меньшей мере около 125 мкМ, от по меньшей мере около 10 мкМ до по меньшей мере около 100 мкМ, от по меньшей мере около 10 мкМ до по меньшей мере около 75 мкМ, от по меньшей мере около 10 мкМ до по меньшей мере около 70 мкМ, от по меньшей мере около 10 мкМ до по меньшей мере около 60 мкМ, от по меньшей мере около 10 мкМ до по меньшей мере около 50 мкМ, от по меньшей мере около 20 мкМ до по меньшей мере около 100 мкМ, от по меньшей мере около 20 мкМ до по меньшей мере около 75 мкМ, от по меньшей мере около 20 мкМ до по меньшей мере около 70 мкМ, от по меньшей мере около 20 мкМ до по меньшей мере около 60 мкМ, от по меньшей мере около 20 мкМ до по меньшей мере около 50 мкМ, от по меньшей мере около 25 мкМ до по меньшей мере около 100 мкМ, от по меньшей мере около 25 мкМ до по меньшей мере около 75 мкМ, от по меньшей мере около 25 мкМ до по меньшей мере около 50 мкМ, от по меньшей мере около 30 мкМ до по меньшей мере около 100 мкМ, от по меньшей мере около 30 мкМ до по меньшей мере около 75 мкМ, от по меньшей мере около 30 мкМ до по меньшей мере около 70 мкМ, от по меньшей мере около 30 мкМ до по меньшей мере около 30 мкМ, от по меньшей мере около 30 мкМ до по меньшей мере около 50 мкМ, от по меньшей мере около 40 мкМ до по меньшей мере около 100 мкМ, от по меньшей мере около 40 мкМ до по меньшей мере около 75 мкМ, от по меньшей мере около 40 мкМ до по меньшей мере около 70 мкМ, от по меньшей мере около 40 мкМ до по меньшей мере около 60 мкМ, от по меньшей мере около 40 мкМ до по меньшей мере около 50 мкМ, от по меньшей мере около 50 мкМ до по меньшей мере около 100 мкМ, от по меньшей мере около 50 мкМ до по меньшей мере около 75 мкМ, от по меньшей мере около 50 мкМ до по меньшей мере около 70 мкМ или от по меньшей мере около 50 мкМ до по меньшей мере около 60 мкМ пентетовой кислоты (DTPA). В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает по меньшей мере около 1 мкМ, по меньшей мере около 5 мкМ, по меньшей мере около 10 мкМ, по меньшей мере около 15 мкМ, по меньшей мере около 20 мкМ, по меньшей мере около 25 мкМ, по меньшей мере около 30 мкМ, по меньшей мере около 35 мкМ, по меньшей мере около 40 мкМ, по меньшей мере около 45 мкМ, по меньшей мере около 50 мкМ, по меньшей мере около 55 мкМ, по меньшей мере около 60 мкМ, по меньшей мере около 65 мкМ, по меньшей мере около 70 мкМ, по меньшей мере около 75 мкМ, по меньшей мере около 80 мкМ, по меньшей мере около 85 мкМ, по меньшей мере около 90 мкМ, по меньшей мере около 95 мкМ или по меньшей мере около 100 мкМ, по меньшей мере около 110 мкМ, по меньшей мере около 120 мкМ, по меньшей мере около 130 мкМ, по

меньшей мере около 140 мкМ, по меньшей мере около 150 мкМ, по меньшей мере около 160 мкМ, по меньшей мере около 170 мкМ, по меньшей мере около 180 мкМ, по меньшей мере около 190 мкМ или по меньшей мере около 200 мкМ DTPA. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает по меньшей мере около 75 мкМ пентетовой кислоты (DTPA). В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает по меньшей мере около 70 мкМ пентетовой кислоты (DTPA). В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает по меньшей мере около 65 мкМ пентетовой кислоты (DTPA).В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает по меньшей мере около 60 мкМ пентетовой кислоты (DTPA). В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает по меньшей мере около 55 мкМ пентетовой кислоты (DTPA).В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает по меньшей мере около 50 мкМ пентетовой кислоты (DTPA). В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает по меньшей мере около 45 мкМ пентетовой кислоты (DTPA). В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает по меньшей мере около 40 мкМ пентетовой кислоты (DTPA). В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает по меньшей мере около 35 мкМ пентетовой кислоты (DTPA). В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает по меньшей мере около 30 мкМ пентетовой кислоты (DTPA). В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает по меньшей мере около 25 мкМ пентетовой кислоты (DTPA).

II.C. Модификаторы/стабилизаторы тоничности

[0556] В некоторых аспектах фармацевтическая композиция дополнительно включает модификатор тоничности и/или стабилизатор. Любой модификатор тоничности и/или любой стабилизатор может быть использован в фармацевтических композициях, раскрытых в настоящем документе. В некоторых аспектах модификатор тоничности и/или стабилизатор включает сахар, аминокислоту, полиол, соль или любую их комбинацию. В некоторых аспектах модификатор тоничности и/или стабилизатор выбран из группы, состоящей из сахарозы, сорбита, трегалозы, маннита, глицерина, глицина, лейцина, изолейцина, хлорида натрия, пролина, аргинина, полиолов, аминокислот и солей.

[0557] В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает сахарозу. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает от по меньшей мере около 1 мМ до по меньшей мере около 500 мМ сахарозы. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает от по меньшей мере около 10 мМ

до по меньшей мере около 500 мМ, от по меньшей мере около 10 мМ до по меньшей мере около 400 мМ, от по меньшей мере около 50 мМ до по меньшей мере около 400 мМ, от по меньшей мере около 100 мМ до по меньшей мере около 400 мМ, от по меньшей мере около 150 мМ до по меньшей мере около 400 мМ, от по меньшей мере около 200 мМ до по меньшей мере около 400 мМ, от по меньшей мере около 250 мМ до по меньшей мере около 400 мМ, от по меньшей мере около 300 мМ до по меньшей мере около 400 мМ, от по меньшей мере около 350 мМ до по меньшей мере около 400 мМ, от по меньшей мере около 50 мМ до по меньшей мере около 350 мМ, от по меньшей мере около 100 мМ до по меньшей мере около 300 мМ, от по меньшей мере около 100 мМ до по меньшей мере около 250 мМ, от по меньшей мере около 100 мМ до по меньшей мере около 200 мМ, от по меньшей мере около 100 мМ до по меньшей мере около 150 мМ, от по меньшей мере около 200 мМ до по меньшей мере около 400 мМ, от по меньшей мере около 200 мМ до по меньшей мере около 300 мМ сахарозы или от по меньшей мере около 200 мМ до по меньшей мере около 250 мМ. В некоторых аспектах фармацевтические композиции включают по меньшей мере около 10 мМ, по меньшей мере около 20 мМ, по меньшей мере около 30 мМ, по меньшей мере около 40 мМ, по меньшей мере около 50 мМ, по меньшей мере около 60 мМ, по меньшей мере около 70 мМ, по меньшей мере около 80 мМ, по меньшей мере около 90 мМ, по меньшей мере около 100 мМ, по меньшей мере около 110 мМ, по меньшей мере около 120 мМ, по меньшей мере около 130 мМ, по меньшей мере около 140 мМ, по меньшей мере около 150 мМ, по меньшей мере около 160 мМ, по меньшей мере около 170 мМ, по меньшей мере около 180 мМ, по меньшей мере около 190 мМ, по меньшей мере около 200 мМ, по меньшей мере около 210 мМ, по меньшей мере около 220 мМ, по меньшей мере около 230 мМ, по меньшей мере около 240 мМ, по меньшей мере около 250 мМ, по меньшей мере около 260 мМ, по меньшей мере около 270 мМ, по меньшей мере около 280 мМ, по меньшей мере около 290 мМ, по меньшей мере около 300 мМ, по меньшей мере около 310 мМ, по меньшей мере около 320 мМ, по меньшей мере около 330 мМ, по меньшей мере около 340 мМ, по меньшей мере около 350 мМ, по меньшей мере около 360 мМ, по меньшей мере около 370 мМ, по меньшей мере около 380 мМ, по меньшей мере около 390 мМ, по меньшей мере около 400 мМ, по меньшей мере около 410 мМ, по меньшей мере около 420 мМ, по меньшей мере около 430 мМ, по меньшей мере около 440 мМ, по меньшей мере около 450 мМ, по меньшей мере около 460 мМ, по меньшей мере около 470 мМ, по меньшей мере около 480 мМ, по меньшей мере около 490 мМ или по меньшей мере около 500 мМ сахарозы. В

некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает по меньшей мере около 200 мМ сахарозы. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает по меньшей мере около 210 мМ сахарозы. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает по меньшей мере около 220 мМ сахарозы. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает по меньшей мере около 230 мМ сахарозы. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает по меньшей мере около 240 мМ сахарозы. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает по меньшей мере около 250 мМ сахарозы. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает по меньшей мере около 260 мМ сахарозы. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает по меньшей мере около 270 мМ сахарозы. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает по меньшей мере около 280 мМ сахарозы. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает по меньшей мере около 290 мМ сахарозы. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает по меньшей мере около 300 мМ сахарозы.

II.D. Буферные агенты

[0558] В некоторых аспектах фармацевтическая композиция дополнительно включает буферный агент. В некоторых аспектах буферный агент выбран из гистидина, сукцината, трометамина, фосфата натрия, ацетата натрия и цитрата натрия. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает гистидин. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает цитрат. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает от по меньшей мере около 1 мМ до по меньшей мере около 100 мМ гистидина. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает от по меньшей мере около 5 мМ до по меньшей мере около 100 мМ, от по меньшей мере около 10 мМ до по меньшей мере около 100 мМ, от по меньшей мере около 15 мМ до по меньшей мере около 100 мМ, от по меньшей мере около 20 мМ до по меньшей мере около 100 мМ, от по меньшей мере около 25 мМ до по меньшей мере около 100 мМ, от по меньшей мере около 30 мМ до по меньшей мере около 100 мМ, от по меньшей мере около 35 мМ до по меньшей мере около 100 мМ, от по меньшей мере около 40 мМ до по меньшей мере около 100 мМ, от по меньшей мере около 45 мМ до по меньшей мере около 100 мМ, от по меньшей мере около 50 мМ до по меньшей мере около 100 мМ, от по меньшей мере около 10 мМ до по меньшей мере около 75 мМ, от по меньшей мере около 10 мМ до по меньшей мере около 50 мМ, от по меньшей мере около 10 мМ до по меньшей мере около 40 мМ, от по меньшей мере около 10 мМ до по меньшей мере около 30 мМ, от по меньшей мере

около 15 мМ до по меньшей мере около 30 мМ, от по меньшей мере около 10 мМ до по меньшей мере около 25 мМ или от по меньшей мере около 15 мМ до по меньшей мере около 25 мМ, гистидина.

[0559] В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает по меньшей мере около 5 мМ, по меньшей мере около 10 мМ, по меньшей мере около 15 мМ, по меньшей мере около 20 мМ, по меньшей мере около 25 мМ, по меньшей мере около 30 мМ, по меньшей мере около 35 мМ, по меньшей мере около 40 мМ, по меньшей мере около 45 мМ, по меньшей мере около 50 мМ, по меньшей мере около 60 мМ, по меньшей мере около 70 мМ, по меньшей мере около 80 мМ, по меньшей мере около 90 мМ или по меньшей мере около 100 мМ гистидина. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает по меньшей мере около 10 мМ гистидина. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает по меньшей мере около 15 мМ гистидина. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает по меньшей мере около 20 мМ гистидина. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает по меньшей мере около 25 мМ гистидина. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает по меньшей мере около 30 мМ гистидина. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает по меньшей мере около 35 мМ гистидина. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает по меньшей мере около 40 мМ гистидина. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает по меньшей мере около 45 мМ гистидина. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает по меньшей мере около 50 мМ гистидина.

[0560] В некоторых аспектах фармацевтическая композиция имеет pH от около 5,2 до около 6,8. В некоторых аспектах pH фармацевтической композиции составляет около 5,2. В некоторых аспектах pH фармацевтической композиции составляет около 5,3. В некоторых аспектах pH фармацевтической композиции составляет около 5,4. В некоторых аспектах pH фармацевтической композиции составляет около 5,5. В некоторых аспектах pH фармацевтической композиции составляет около 5,6. В некоторых аспектах pH фармацевтической композиции составляет около 5,7. В некоторых аспектах pH фармацевтической композиции составляет около 5,8. В некоторых аспектах pH фармацевтической композиции составляет около 5,9. В некоторых аспектах pH фармацевтической композиции составляет около 6,0. В некоторых аспектах pH фармацевтической композиции составляет около 6,1. В некоторых аспектах pH фармацевтической композиции составляет около 6,2. В

некоторых аспектах pH фармацевтической композиции составляет около 6,3. В некоторых аспектах pH фармацевтической композиции составляет около 6,4. В некоторых аспектах pH фармацевтической композиции составляет около 6,5. В некоторых аспектах pH фармацевтической композиции составляет около 6,6, В некоторых аспектах pH фармацевтической композиции составляет около 6,7. В некоторых аспектах pH фармацевтической композиции составляет около 6,8.

II.F. Поверхностно-активные вещества

[0561] В некоторых аспектах фармацевтическая композиция дополнительно включает поверхностно-активное вещество. Любое поверхностно-активное вещество может быть использовано в фармацевтических композициях, раскрытых в настоящем документе. В некоторых аспектах поверхностно-активное вещество выбрано из группы, состоящей из полисорбата 20, полисорбата 80 и полоксамера 188. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает полисорбат 80. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает от по меньшей мере около 0,001% до по меньшей мере около 1% масс./об. полисорбата 80. В некоторых аспектах фармацевтические композиции включают от по меньшей мере около 0,01% до по меньшей мере около 0,1%, от по меньшей мере около 0,02% до по меньшей мере около 0,1%, от по меньшей мере около 0,03% до по меньшей мере около 0,1%, от по меньшей мере около 0,04% до по меньшей мере около 0,1%, от по меньшей мере около 0,05% до по меньшей мере около 0,1%, от по меньшей мере около 0,01% до по меньшей мере около 0,09%, от по меньшей мере около 0.01% до по меньшей мере около 0,8%, от по меньшей мере около 0,01% до по меньшей мере около 0,7%, от по меньшей мере около 0,01% до по меньшей мере около 0,6%, от по меньшей мере около 0,01% до по меньшей мере около 0,5%, от по меньшей мере около 0,02% до по меньшей мере около 0,09%, от по меньшей мере около 0,03% до по меньшей мере около 0,08%, от по меньшей мере около 0,04% до по меньшей мере около 0,07% или от по меньшей мере около 0,04% до по меньшей мере около 0,06% масс./об. полисорбата 80. В некоторых аспектах фармацевтические композиции включают от по меньшей мере около 0,01% до по меньшей мере около 0,1% масс./об. полисорбата 80.

[0562] В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает по меньшей мере около 0,01% масс./об., по меньшей мере около 0,02% масс./об., по меньшей мере около 0,03% масс./об., по меньшей мере около 0,04% масс./об., по меньшей мере около 0,05% масс./об., по меньшей мере около 0,06% масс./об., по

меньшей мере около 0,07% масс./об., по меньшей мере около 0,08% масс./об., по меньшей мере около 0,09% масс./об. или по меньшей мере около 0,1% масс./об. полисорбата 80. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает по меньшей мере около 0,03% масс./об. полисорбата 80. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает по меньшей мере около 0,04% масс./об. полисорбата 80. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает по меньшей мере около 0,05% масс./об. полисорбата 80. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает по меньшей мере около 0,06% масс./об. полисорбата 80. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает по меньшей мере около 0,07% масс./об. полисорбата 80.

[0563] В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает: (a) около 120 мг/мл антитела (например, анти-PD-1 антитела, например, ниволумаб или пембролизумаб); (b) около 20 мМ гистидина; (c) около 250 мМ сахарозы; (d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80; (e) около 50 мкМ пентетовой кислоты; и (f) около 5 мМ метионина. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает: (a) около 120 мг/мл ниволумаба; (b) около 20 мМ гистидина; (c) около 250 мМ сахарозы; (d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80; (e) около 50 мкМ пентетовой кислоты; и (f) около 5 мМ метионина.

[0564] В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает: (a) анти-PD-1 антитело, например, ниволумаб; (b) ингибитор контрольной точки, например, анти-CTLA-4 антитело; (c) около 20 мМ гистидина; (d) около 250 мМ сахарозы; (e) около 0,05% масс./об. полисорбата 80; (f) около 50 мкМ пентетовой кислоты; и (g) около 5 мМ метионина. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает: (a) анти-PD-1 антитело, например, ниволумаб; (b) ингибитор контрольной точки, например, анти CTLA-4 антитело; (c) около 20 мМ гистидина; (г) около 250 мМ сахарозы; (d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80; (e) около 50 мкМ пентетовой кислоты; (g) около 5 мМ метионина; и (h) около 2000 Ед/мл rHuPH20.

[0565] В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает: (a) анти-PD-1 антитело, например, ниволумаб; (b) ингибитор контрольной точки, например, анти-LAG-3 антитело; (c) около 20 мМ гистидина; (d) около 250 мМ сахарозы; (e) около 0,05% масс./об. полисорбата 80; (f) около 50 мкМ пентетовой кислоты; и (g) около 5 мМ метионина. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает: (a) анти-PD-1 антитело, например, ниволумаб; (b) ингибитор контрольной точки, например, анти-LAG-3 антитело; (c) около 20 мМ гистидина; (г)

около 250 мМ сахарозы; (d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80; (e) около 50 мкМ пентетовой кислоты; (g) около 5 мМ метионина; и (h) около 2000 Ед/мл rHuPH20.

[0566] В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает: (a) около 150 мг/мл анти-PD-1 антитела; (b) около 20 мМ гистидина; (c) около 250 мМ сахарозы; (d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80; (e) около 50 мкМ пентетовой кислоты; и (f) около 5 мМ метионина. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает: (a) около 150 мг/мл анти-PD-1 антитела; (b) около 20 мМ гистидина; (c) около 250 мМ сахарозы; (d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80; (e) около 50 мкМ пентетовой кислоты; (f) около 5 мМ метионина; и (g) около 2000 Ед/мл rHuPH20. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает: (a) около 150 мг/мл ниволумаба; (b) около 20 мМ гистидина; (c) около 250 мМ сахарозы; (d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80; (e) около 50 мкМ пентетовой кислоты; и (f) около 5 мМ метионина. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает: (a) около 150 мг/мл ниволумаба; (b) около 20 мМ гистидина; (c) около 250 мМ сахарозы; (d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80; (e) около 50 мкМ пентетовой кислоты; (f) около 5 мМ метионина; и (g) около 2000 Ед/мл rHuPH20.

[0567] В некоторых аспектах единичная доза, описанная в настоящем документе, включает: (a) около 120 мг/мл анти-PD-1 антитела; (b) около 20 мМ гистидина; (c) около 250 мМ сахарозы; (d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80; (e) около 50 мкМ пентетовой кислоты; и (f) около 5 мМ метионина. В определенных аспектах единичная доза, описанная в настоящем документе, включает: (a) около 120 мг/мл анти-PD-1 антитела; (b) около 20 мМ гистидина; (c) около 250 мМ сахарозы; (d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80; (e) около 50 мкМ пентетовой кислоты; (f) около 5 мМ метионина; и (g) около 2000 Ед/мл rHuPH20. В некоторых аспектах единичная доза, описанная в настоящем документе, включает: (a) около 120 мг/мл ниволумаба; (b) около 20 мМ гистидина; (c) около 250 мМ сахарозы; (d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80; (e) около 50 мкМ пентетовой кислоты; и (f) около 5 мМ метионина. В некоторых аспектах единичная доза, описанная в настоящем документе, включает: (a) около 120 мг/мл ниволумаба; (b) около 20 мМ гистидина; (c) около 250 мМ сахарозы; (d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80; (e) около 50 мкМ пентетовой кислоты; (f) около 5 мМ метионина; и (g) около 2000 Ед/мл rHuPH20.

[0568] В некоторых аспектах единичная доза, описанная в настоящем документе, включает: (a) около 150 мг/мл анти-PD-1 антитела; (b) около 20 мМ гистидина; (c) около 250 мМ сахарозы; (d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80; (e)

около 50 мкМ пентетовой кислоты; и (f) около 5 мМ метионина. В некоторых аспектах единичная доза, описанная в настоящем документе, включает: (a) около 150 мг/мл анти-PD-1 антитела; (b) около 20 мМ гистидина; (c) около 250 мМ сахарозы; (d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80; (e) около 50 мкМ пентетовой кислоты; (f) около 5 мМ метионина; и (g) около 2000 Ед/мл rHuPH20. В некоторых аспектах единичная доза, описанная в настоящем документе, включает: (a) около 150 мг/мл ниволумаба; (b) около 20 мМ гистидина; (c) около 250 мМ сахарозы; (d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80; (e) около 50 мкМ пентетовой кислоты; и (f) около 5 мМ метионина. В некоторых аспектах единичная доза, описанная в настоящем документе, включает: (a) около 150 мг/мл ниволумаба; (b) около 20 мМ гистидина; (c) около 250 мМ сахарозы; (d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80; (e) около 50 мкМ пентетовой кислоты; (f) около 5 мМ метионина; и (g) около 2000 Ед/мл rHuPH20.

[0569] В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает (a) около 672 мг ниволумаба; (b) около 8,68 мг L-гистидина; (c) около 11,8 мг гистидина HCl H2O; (d) около 479 мг сахарозы; (e) около 2,80 мг полисорбата 80; (f) около 0,110 мг пентетовой кислоты; (g) около 4,18 мг метионина; где (a)-(g) восстанавливаются в воде (например, стерильной воде для инъекций, SWFI) до конечного объема по меньшей мере около 5,6 мл.

II.G. Дополнительные терапевтические (например, противораковые) средства

[0570] В некоторых аспектах фармацевтическая композиция дополнительно включает второе терапевтическое средство (например, анти-PD-1 антитело и дополнительное терапевтическое средство, или анти-PD-L1 антитело и дополнительное терапевтическое средство). В некоторых аспектах фармацевтическая композиция дополнительно включает третье терапевтическое средство. Дополнительное терапевтическое средство может включать любую терапию для лечения опухоли у субъекта и/или любую стандартную терапию, как раскрыто в следующих разделах здесь. В некоторых аспектах дополнительное терапевтическое средство включает второе антитело. В некоторых аспектах дополнительное терапевтическое средство включает антитело или его антигенсвязывающий участок, которое специфически связывает CTLA-4, LAG-3, TIGIT, TIM3, NKG2a, OX40, ICOS, MICA, CD137, KIR, TGFβ, IL-10, IL-8, B7-H4, Fas-лиганд, CXCR4, мезотелин, CD27, GITR или любую их комбинацию. В некоторых аспектах второе терапевтическое средство, третье терапевтическое средство или оба включают IL-2 (например,

бемпегальдеслейкин). В некоторых аспектах второе терапевтическое средство, третье терапевтическое средство или оба включают IL12-Fc (например, BMS-986415).

[0571] В некоторых аспектах второе антитело включает анти-CTLA-4 антитело. Анти-CTLA-4 антитело может быть любым антителом или его антигенсвязывающим участком, которое связывает CTLA-4 и ингибирует его активность. В некоторых аспектах анти-CTLA-4 антитело представляет собой любое анти-CTLA-4 антитело, раскрытое в настоящем документе. В некоторых аспектах второе антитело включает тремелимумаб. В некоторых аспектах второе антитело включает ипилимумаб.

[0572] В некоторых аспектах второе антитело включает анти-LAG3 антитело. Анти-LAG3 антитело может быть любым антителом или его антигенсвязывающим участком, которое связывает LAG-3 и ингибирует его активность. В некоторых аспектах анти-LAG3 антитело включает любое анти-LAG3 антитело, раскрытое в настоящем документе. В некоторых аспектах второе антитело включает 25F7.

[0573] В некоторых аспектах второе антитело включает анти-CD137 антитело. Антитело против CD137 может быть любым антителом или его антигенсвязывающим участком, которое связывает CD137 и ингибирует его активность. В некоторых аспектах анти-CD137 антитело включает любое анти-CD137 антитело, раскрытое в настоящем документе. В некоторых аспектах второе антитело включает урелумаб.

[0574] В некоторых аспектах второе антитело включает анти-KIR антитело. Анти-KIR антитело включает любое антитело или его антигенсвязывающий участок, которая связывает KIR и ингибирует его активность. В некоторых аспектах анти-KIR антитело включает любое анти-KIR антитело, раскрытое в настоящем документе. В некоторых аспектах второе антитело включает лирилумаб.

[0575] В некоторых аспектах второе антитело включает анти-GITR антитело. Анти-GITR антитело может быть любым антителом или его антигенсвязывающим участком, которое связывает GITR и ингибирует его активность. В некоторых аспектах анти-GITR антитело включает любое анти-GITR антитело, раскрытое в настоящем документе. В некоторых аспектах второе антитело включает MK4166, В некоторых аспектах второе антитело включает TRX518.

[0576] В некоторых аспектах фармацевтическая композиция, раскрытая в настоящем документе, включает (i) анти-PD-1 или анти-PD-L1 антитело и (ii) анти-VISTA антитело.

[0577] В некоторых аспектах фармацевтическая композиция, раскрытая в настоящем документе, включает (i) анти-PD-1 или анти-PD-L1 антитело и (ii) анти-

CD96 антитело.

[0578] В некоторых аспектах фармацевтическая композиция, раскрытая в настоящем документе, включает (i) анти-PD-1 или анти-PD-L1 антитело и (ii) анти-IL-8 антитело, например, с HuMax®-IL8.

[0579] В некоторых аспектах фармацевтическая композиция, раскрытая в настоящем документе, включает (i) анти-PD-1 или анти-PD-L1 антитело и (ii) анти-TGFβ антитело.

[0580] В некоторых аспектах второе антитело включает анти-B7-H4 антитело. В некоторых аспектах анти-B7-H4 антитело представляет собой анти-B7-H4 антитело, раскрытое в Int'l публикации No. WO/2009/073533.

[0581] В некоторых аспектах второе антитело включает анти-CD96 антитело. В некоторых аспектах второе антитело включает анти-TIM3 антитело. В некоторых аспектах второе антитело включает анти-VISTA антитело. В некоторых аспектах второе антитело включает анти-NKG2A антитело. В некоторых аспектах второе антитело включает анти-ICOS антитело. В некоторых аспектах второе антитело включает анти-OX40 антитело. В некоторых аспектах второе антитело включает анти-TIGIT антитело. В некоторых аспектах второе антитело включает анти-IL8 антитело, такое как HuMax®-IL8 (BMS-986253). В некоторых аспектах второе антитело включает анти-TGFβ антитело.

[0582] В некоторых аспектах фармацевтическая композиция, раскрытая в настоящем документе, включает (i) анти-PD-1 или анти-PD-L1 антитело и (ii) антитело к Fas-лиганду. В некоторых аспектах антитело к Fas-лиганду представляет собой антитело к Fas-лиганду, раскрытое в Int'l публикации No. WO/2009/073533.

[0583] В некоторых аспектах фармацевтическая композиция, раскрытая в настоящем документе, включает (i) анти-PD-1 или анти-PD-L1 антитело и (ii) анти-CXCR4 антитело. В некоторых аспектах анти-CXCR4 антитело представляет собой анти-CXCR4 антитело, раскрытое в публикации U.S. No. 2014/0322208 (например, Ulocuplumab (BMS-936564)).

[0584] В некоторых аспектах фармацевтическая композиция, раскрытая в настоящем документе, включает (i) анти-PD-1 или анти-PD-L1 антитело и (ii) антитело к мезотелину. В некоторых аспектах антитело к мезотелину представляет собой антитело к мезотелину, раскрытое в патенте США. No. 8,399,623.

[0585] В некоторых аспектах фармацевтическая композиция, раскрытая в настоящем документе, включает (i) анти-PD-1 или анти-PD-L1 антитело и (ii) анти-

HER2 антитело. В некоторых аспектах анти-HER2 антитело представляет собой Герцептин (патент США № 5,821,337), трастузумаб или адо-трастузумаб эмтанзин (Kadcyla, например, WO/2001/000244).

[0586] В некоторых аспектах фармацевтическая композиция, раскрытая в настоящем документе, включает (i) анти-PD-1 или анти-PD-L1 антитело и (ii) анти-CD27 антитело. В некоторых аспектах, анти-CD27 антитело представляет собой варлилумаб (также известный как "CDX-1127" и "1F5"), который представляет собой человеческое IgG1 антитело, являющееся агонистом для человеческого CD27, как раскрыто, например, в патенте США № 9,169,325.

[0587] В некоторых аспектах фармацевтическая композиция, раскрытая в настоящем документе, включает (i) анти-PD-1 или анти-PD-L1 антитело и (ii) анти-CD73 антитело. В некоторых аспектах анти-CD73 антитело представляет собой CD73.4.IgG2C219S.IgG1.1f.

[0588] В некоторых аспектах фармацевтическая композиция, раскрытая в настоящем документе, включает (i) анти-PD-1 или анти-PD-L1 антитело и (ii) анти-MICA/B антитело. В некоторых аспектах антитело против MICA/B представляет собой любое антитело или его антигенсвязывающий участок, которое специфически связывает человеческий MICA/B, включая, но не ограничиваясь этим, любое антитело против MICA/B, раскрытое в международной публикации № WO 2019/183551, которая включена в настоящий документ посредством ссылки во всей своей полноте.

[0589] В некоторых аспектах фармацевтическая композиция, раскрытая в настоящем документе, включает (i) анти-PD-1 или анти-PD-L1 антитело и (ii) анти-IL-10 антитело. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция, раскрытая в настоящем документе, включает (i) анти-PD-1 или анти-PD-L1 антитело и (ii) молекулу IL-10 длительного действия. В некоторых аспектах молекула IL-10 длительного действия включает слитую молекулу IL-10-Fc. В некоторых аспектах молекула IL-10 длительного действия включает пегилированный IL-10, такой как AM0010 (ARMO BioSciences).

[0590] В некоторых аспектах фармацевтическая композиция, раскрытая в настоящем документе, включает (i) анти-PD-1 или анти-PD-L1 антитело и (ii) анти-IL-2 антитело. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция, раскрытая в настоящем документе, включает (i) анти-PD-1 или анти-PD-L1 антитело и (ii) молекулу IL-2 длительного действия. В некоторых аспектах IL-2 длительного действия включает пегилированный IL-2, такой как NKTR-214 (Nektar; см. US 8,252,275,

WO12/065086 и WO15/125159).

II.H. Контейнеры и устройства для доставки

[0591] Некоторые аспекты настоящего раскрытия относятся к флакону, содержащему фармацевтическую композицию, раскрытую в настоящем документе. В некоторых аспектах флакон включает единичную дозу фармацевтической композиции. В некоторых аспектах флакон включает (a) около 150 мг/мл анти-PD-1 антитела; (b) около 20 мМ L-гистидина; (c) около 250 мМ сахарозы; (d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80; (e) около 50 мкМ пентетовой кислоты; и (f) около 5 мМ метионина. В некоторых аспектах флакон не включает гиалуронидазу.

[0592] В некоторых аспектах флакон представляет собой шприц. Любой шприц может быть использован в композициях и способах, раскрытых в настоящем документе. В некоторых аспектах шприц включает один или более механических элементов, которые улучшают подкожное введение.

[0593] В некоторых аспектах флакон представляет собой автоинжектор. Как правило, автоинжектор работает за счет того, что пациент приводит в действие иглу и последующий поток лекарства исключительно за счет давления на место инъекции. Давление приводит в действие щиток иглы, который зацепляет иглу и заставляет устройство вводить лекарство. Соответственно, некоторые аспекты настоящего раскрытия относятся к автоинжектору, содержащему (a) около 150 мг/мл анти-PD-1 антитела; (b) около 20 мМ L-гистидина; (c) около 250 мМ сахарозы; (d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80; (e) около 50 мкМ пентетовой кислоты; и (f) около 5 мМ метионина. В некоторых аспектах автоинжектор не содержит гиалуронидазу.

[0594] В некоторых аспектах флакон представляет собой инъекционную ручку. Стандартные инъекционные ручки требуют от пациента активации кнопки, которая приводит в действие иглу в целевом месте инъекции. Соответственно, некоторые аспекты настоящего раскрытия относятся к инъекционной ручке, содержащей (a) около 150 мг/мл анти-PD-1 антитела; (b) около 20 мМ L-гистидина; (c) около 250 мМ сахарозы; (d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80; (e) около 50 мкМ пентетовой кислоты; и (f) около 5 мМ метионина. В некоторых аспектах инъекционная ручка не содержит гиалуронидазу.

[0595] В некоторых аспектах флакон представляет собой носимый насос или носимое устройство. В некоторых аспектах носимый насос представляет собой патч-насос. Соответственно, некоторые аспекты настоящего раскрытия направлены на носимый насос, содержащий (a) около 150 мг/мл анти-PD-1 антитела; (b) около 20 мМ

L-гистидина; (c) около 250 мМ сахарозы; (d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80; (e) около 50 мкМ пентетовой кислоты; и (f) около 5 мМ метионина. В некоторых аспектах носимый насос не содержит гиалуронидазу.

[0596] Некоторые аспекты настоящего раскрытия направлены на автоинжектор, содержащий (a) около 150 мг/мл анти-PD-1 антитела; (b) около 20 мМ L-гистидина; (c) около 250 мМ сахарозы; (d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80; (e) около 50 мкМ пентетовой кислоты; (f) около 5 мМ метионина; и (g) около 0,0182 мг/мл rHuPH20.

[0597] В некоторых аспектах флакон представляет собой инъекционную ручку. Стандартные инъекционные ручки требуют от пациента активации кнопки, которая приводит в действие иглу в целевом месте инъекции. Соответственно, некоторые аспекты настоящего раскрытия направлены относятся к инъекционной ручке, содержащей (a) около 150 мг/мл анти-PD-1 антитела; (b) около 20 мМ L-гистидина; (c) около 250 мМ сахарозы; (d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80; (e) около 50 мкМ пентетовой кислоты; (f) около 5 мМ метионина; и (g) около 0,0182 мг/мл rHuPH20.

[0598] В некоторых аспектах флакон представляет собой носимый насос или носимое устройство. В некоторых аспектах носимый насос представляет собой патч-насос. Соответственно, некоторые аспекты настоящего раскрытия направлены на носимый насос, содержащий (a) около 150 мг/мл анти-PD-1 антитела; (b) около 20 мМ L-гистидина; (c) около 250 мМ сахарозы; (d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80; (e) около 50 мкМ пентетовой кислоты; (f) около 5 мМ метионина; и (g) около 0,0182 мг/мл rHuPH20.

III. Способы по изобретению

[0599] Некоторые аспекты настоящего раскрытия относятся к способам лечения нуждающегося в этом субъекта, включающим подкожное введение субъекту дозы фармацевтической композиции, раскрытой в настоящем документе, например, включающей (i) антитело, которое специфически связывает PD-1 или PD-L1 и ингибирует взаимодействие PD-1 и PD-L1 ("анти-PD-1 антитело" или "анти-PD-L1 антитело", соответственно). В некоторых аспектах фармацевтическая композиция включает гидролазный фермент эндогликозидазу. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция не включает гиалуронидазу.

[0600] Некоторые аспекты настоящего раскрытия относятся к способам лечения нуждающегося в этом субъекта, включающим подкожное введение субъекту дозы фармацевтической композиции, включающей антитело, которое специфически

связывает PD-1 или PD-L1 и ингибирует взаимодействие PD-1 и PD-L1 ("анти-PD-1 антитело" или "анти-PD-L1 антитело", соответственно). В некоторых аспектах доза представляет собой терапевтически эффективную дозу. В некоторых аспектах терапевтически эффективная доза включает одну или несколько единичных доз для подкожного введения. В некоторых аспектах по меньшей мере одна из единичных доз для подкожного введения имеет общий объем менее чем около 5 мл (например, менее чем около 4,5 мл, менее чем около 4,0 мл, менее чем около 3,5 мл, менее чем около 3,0 мл, менее чем около 3 мл или менее чем около 2,5 мл. В некоторых аспектах терапевтически эффективная доза включает от по меньшей мере около 250 мг до по меньшей мере около 2400 мг антитела. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция не включает фермент, который облегчает подкожную доставку. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция не включает гиалуронидазу.

III.A. Дозировка

[0601] В некоторых аспектах терапевтически эффективная доза антитела включает однократную единичную дозу для подкожного введения, например, вся доза вводится в виде однократной единичной дозы. В некоторых аспектах терапевтически эффективная доза антитела включает две или более единичные дозы для подкожного введения, например, эффективная единичная доза делится на две или более единичных доз для подкожного введения. В некоторых аспектах терапевтически эффективная доза антитела включает по меньшей мере две единичные дозы для подкожного введения. В некоторых аспектах терапевтически эффективная доза антитела включает по меньшей мере три единичные дозы для подкожного введения. В некоторых аспектах терапевтически эффективная доза антитела включает по меньшей мере четыре единичные дозы для подкожного введения. В некоторых аспектах терапевтически эффективная доза антитела включает по меньшей мере пять единичных доз для подкожного введения. В некоторых аспектах терапевтически эффективная доза антитела включает по меньшей мере шесть единичных доз для подкожного введения. В некоторых аспектах терапевтически эффективная доза антитела включает по меньшей мере семь единичных доз для подкожного введения. В некоторых аспектах терапевтически эффективная доза антитела включает по меньшей мере восемь единичных доз для подкожного введения. В некоторых аспектах терапевтически эффективная доза антитела включает по меньшей мере девять единичных доз для подкожного введения. В некоторых аспектах терапевтически эффективная доза антитела включает десять или более единичных доз для подкожного

введения.

[0602] В некоторых аспектах каждая единичная доза для подкожного введения вводится в один и тот же день. В некоторых аспектах одна или более единичных доз для подкожного введения вводятся в первый день, и одна или более единичных доз для подкожного введения той же терапевтически эффективной дозы вводятся во второй день. В некоторых аспектах первая единичная доза для подкожного введения и вторая единичная доза для подкожного введения вводятся последовательно. В некоторых аспектах первая единичная доза для подкожного введения и вторая единичная доза для подкожного введения одной и той же эффективной дозы вводятся последовательно, при этом вторая единичная доза для подкожного введения вводится менее чем около 5 минут, менее чем около 10 минут, менее чем около 15 минут, менее чем около 20 минут, менее чем около 25 минут, менее чем около 30 минут, менее чем около 45 минут, менее чем около 60 минут, менее чем около 75 минут, менее чем около 90 минут, менее чем около 2 часа, менее чем около 2,5 часов, менее чем около 3 часов, менее чем около 3,5 часов, менее чем около 4 часов, менее чем около 4,5 часов, менее чем около 5 часов, менее чем около 5,5 часов, менее чем около 6 часов, менее чем около 7 часов, менее чем около 8 часов, менее чем около 9 часов, менее чем около 12 часов, менее чем около 18 часов или менее чем около 24 часов после первой дозы для подкожного введения. В некоторых аспектах две или более единичные дозы для подкожного введения вводятся последовательно, при этом каждая из двух или более единичных доз для подкожного введения вводится с интервалом менее чем около 10 минут, менее чем около 15 минут, менее чем около 20 минут, менее чем около 25 минут, менее чем около 30 минут, менее чем около 45 минут, менее чем около 1 часа, менее чем около 2 часов, менее чем около 3 часов, менее чем около 4 часов, менее чем около 5 часов, менее чем около 6 часов, менее чем около 7 часов, менее чем около 8 часов, менее чем около 9 часов, менее чем около 10 часов, менее чем около 11 часов, менее чем около 12 часов, менее чем около 15 часов, менее чем около 18 часов, менее чем около 21 часа или менее чем около 24 часов между единичными дозами для подкожного введения.

[0603] В некоторых аспектах одна или несколько единичных доз для подкожного введения вводятся в одно или несколько мест тела. В некоторых аспектах первая единичная доза для подкожного введения и вторая единичная доза для подкожного введения вводятся в одно или несколько мест тела. В некоторых аспектах первая единичная доза для подкожного введения и вторая единичная доза для

подкожного введения вводятся в первое место тела и втором месте тела, при этом первое место тела не совпадает со вторым местом тела. В некоторых аспектах первая единичная доза для подкожного введения и вторая единичная доза для подкожного введения вводятся в первое место тела, и третья единичная доза для подкожного введения вводится во второе место тела, при этом первое место тела не совпадает со вторым местом тела. В некоторых аспектах первая единичная доза для подкожного введения и вторая единичная доза для подкожного введения вводятся в первое место тела, и третья единичная доза для подкожного введения и четвертая единичная доза для подкожного введения вводятся во второе место тела, при этом первое место тела не совпадает со вторым местом тела. В некоторых аспектах первая единичная доза для подкожного введения вводится в первое место тела, вторая единичная доза для подкожного введения вводится во второе место тела, и третья единичная доза для подкожного введения вводится в третье место тела, при этом первое место тела, второе место тела и третье место тела различны. В некоторых аспектах первая единичная доза для подкожного введения вводится в первое место тела, вторая единичная доза для подкожного введения вводится во второе место тела, третья единичная доза для подкожного введения вводится в третье место тела, и четвертая единичная доза для подкожного введения вводится в четвертое место тела, при этом первое место тела, второе место тела, третье место тела и четвертое место тела различны.

[0604] Как используется в настоящем документе, когда по меньшей мере две единичные дозы для подкожного введения вводятся в одно и то же место тела, две дозы для подкожного введения могут быть введены в одно и то же место инъекции или в соседнее место инъекции в пределах одного и того же места тела. Например, две дозы для подкожного введения, введенные в одно и то же место тела, могут быть введены в правую руку субъекта. В данном примере, если обе дозы для подкожного введения вводятся, например, в правую руку, то обе единичные дозы для подкожного введения вводятся в одно и то же "место тела", как используется в данном документе.

[0605] Терапевтически эффективную дозу и/или дозу для подкожного введения можно вводить подкожно, как раскрыто в настоящем документе, используя любые способы или устройства. В некоторых аспектах терапевтически эффективную дозу и/или дозу для подкожного введения вводят с помощью шприца. В некоторых аспектах терапевтически эффективную дозу и/или дозу для подкожного введения вводят с помощью автоинжектора. В некоторых аспектах терапевтически эффективная доза и/или единичная доза для подкожного введения вводится с помощью ручки-

инжектора. В некоторых аспектах терапевтически эффективная доза и/или единичная доза для подкожного введения вводится с помощью носимого насоса.

[0606] В некоторых аспектах терапевтически эффективная доза и/или единичная доза для подкожного введения вводятся подкожной инфузией в течение менее чем около 30 минут, менее чем около 25 минут, менее чем около 20 минут, менее чем около 15 минут, менее чем около 14 минут, менее чем около 13 минут, менее чем около 12 минут, менее чем около 11 минут, менее чем около 10 минут, менее чем около 9 минут, менее чем около 8 минут, менее чем около 7 минут, менее чем около 6 минут, менее чем около 5 минут, менее чем около 4 минут, менее чем около 3 минут или менее чем около 2 минут. В некоторых аспектах терапевтически эффективная доза и/или единичная доза для подкожного введения вводятся подкожной инфузией в течение менее чем около 90 секунд, менее чем около 75 секунд, менее чем около 60 секунд, менее чем около 45 секунд, менее чем около 30 секунд, менее чем около 15 секунд или менее чем около 10 секунд. В некоторых аспектах терапевтически эффективная доза и/или единичная доза для подкожного введения вводятся подкожной инфузией в течение менее чем около 15 минут. В некоторых аспектах терапевтически эффективная доза и/или единичная доза для подкожного введения вводятся подкожной инфузией в течение менее чем около 10 минут. В некоторых аспектах терапевтически эффективная доза и/или единичная доза для подкожного введения вводятся подкожной инфузией в течение менее чем около 5 минут. В некоторых аспектах терапевтически эффективная доза и/или единичная доза для подкожного введения вводятся подкожной инфузией в течение менее чем около 4 минут. В некоторых аспектах терапевтически эффективная доза и/или единичная доза для подкожного введения вводятся подкожной инфузией в течение менее чем около 3 минут. В некоторых аспектах терапевтически эффективная доза и/или единичная доза для подкожного введения вводятся подкожной инфузией в течение менее чем около 2 минут.

III.A.1. Дозировка анти-PD-1 антитела

[0607] В некоторых аспектах настоящего раскрытия антитело включает анти-PD-1 антитело. Любое анти-PD-1 антитело может быть использовано в способах, раскрытых в настоящем документе. В некоторых аспектах анти-PD-1 антитело включает ниволумаб. В некоторых аспектах анти-PD-1 антитело включает пембролизумаб.

[0608] В некоторых аспектах доза антитела, например, анти-PD-1 антитела (например, ниволумаба), составляет от около 250 мг до около 600 мг антитела,

вводимого приблизительно каждую неделю. В некоторых аспектах доза антитела, например, анти-PD-1 антитела (например, ниволумаб), составляет от около 250 мг до около 550 мг, около 250 мг до около 500 мг, около 250 мг до около 450 мг, около 250 мг до около 400 мг, около 250 мг до около 350 мг, около 250 мг до около 300 мг, около 275 мг до около 400 мг, около 275 мг до около 375 мг, около 275 мг до около 350 мг, около 275 мг до около 325 мг, около 275 мг до около 300 мг, около 300 мг до около 600 мг, около 300 мг до около 550 мг, около 300 мг до около 400 мг, около 300 мг до около 450 мг, около 300 мг до около 400 мг, около 300 мг до около 350 мг или от около 300 мг до около 325 мг антитела, вводимого приблизительно каждую неделю. В некоторых аспектах доза антитела, например, анти-PD-1 антитела (например, ниволумаба), составляет от около 250 мг до около 400 мг антитела, вводимого приблизительно каждую неделю. В некоторых аспектах доза антитела, например, анти-PD-1 антитела (например, ниволумаба), составляет от около 250 мг до около 350 мг антитела, вводимого приблизительно каждую неделю. В некоторых аспектах доза антитела, например, анти-PD-1 антитела (например, ниволумаба), составляет от около 275 мг до около 325 мг антитела, вводимого приблизительно каждую неделю.

[0609] В некоторых аспектах доза антитела составляет около 250 мг, около 260 мг, около 270 мг, около 275 мг, около 280 мг, около 290 мг, около 300 мг, около 310 мг, около 320 мг, около 325 мг, около 330 мг, около 340 мг, около 350 мг, около 360 мг, около 370 мг, около 375 мг, около 380 мг, около 390 мг, около 400 мг, около 410 мг, около 420 мг, около 425 мг, около 430 мг, около 440 мг, около 450 мг, около 460 мг, около 470 мг, около 475 мг, около 480 мг, около 490 мг, около 500 мг, около 510 мг, около 520 мг, около 525 мг, около 530 мг, около 540 мг, около 550 мг, около 560 мг, около 570 мг, около 575 мг, около 580 мг, около 590 мг или около 600 мг, вводимых приблизительно каждую неделю. В некоторых аспектах доза антитела составляет около 250 мг, вводимых приблизительно каждую неделю. В некоторых аспектах доза антитела составляет около 275 мг, вводимых приблизительно каждую неделю. В некоторых аспектах доза антитела составляет около 300 мг, вводимых приблизительно каждую неделю. В некоторых аспектах доза антитела составляет около 325 мг, вводимых приблизительно каждую неделю. В некоторых аспектах доза антитела составляет около 350 мг, вводимых приблизительно каждую неделю.

[0610] В некоторых аспектах доза антитела включает однократную единичную дозу для подкожного введения около 300 мг. В некоторых аспектах доза антитела включает однократную единичную дозу для подкожного введения около 300 мг в

общем вводимом объеме около 2 мл. В некоторых аспектах доза антитела включает две единичные дозы для подкожного введения, где каждая из двух единичных доз для подкожного введения включает около 150 мг антитела. В некоторых аспектах по меньшей мере одна из двух единичных доз для подкожного введения включает около 150 мг антитела в общем объеме менее 5 мл (например, менее 4,5 мл, менее 4,0 мл, менее 3,5 мл, менее 3,0 мл, менее 2,5 мл или менее 2,0 мл). В некоторых аспектах две единичные дозы для подкожного введения вводятся субъекту в два разных места тела.

[0611] В некоторых аспектах доза включает три единичные дозы для подкожного введения, где каждая из трех единичных доз для подкожного введения включает около 100 мг антитела. В некоторых аспектах, при по меньшей мере одна из трех единичных доз для подкожного введения включает около 100 мг антитела в общем объеме около 5 мл (например, менее чем около 4,5 мл, менее чем около 4,0 мл, менее чем около 3,5 мл, менее чем около 3,0 мл, менее чем около 2,5 мл или менее чем около 2,0 мл). В некоторых аспектах по меньшей мере две из трех единичных доз для подкожного введения вводятся субъекту по меньшей мере в два разных места тела. В некоторых аспектах первая единичная доза для подкожного введения и вторая единичная доза для подкожного введения вводятся в первое место тела, и третья единичная доза для подкожного введения вводится во второе место тела. В некоторых аспектах первая единичная доза для подкожного введения вводится в первое место тела, вторая единичная доза для подкожного введения вводится во второе место тела, и третья единичная доза для подкожного введения вводится в третье место тела.

[0612] В некоторых аспектах доза антитела, например, анти-PD-1 антитела (например, ниволумаба), составляет от около 300 мг до около 900 мг антитела, вводимого приблизительно каждые две недели. В некоторых аспектах доза антитела, например, анти-PD-1 антитела (например, ниволумаба), составляет от около 300 мг до около 850 мг, от около 300 мг до около 800 мг, от около 300 мг до около 750 мг, от около 300 мг до около 700 мг, от около 300 мг до около 650 мг, от около 300 мг до около 600 мг, от около 350 мг до около 900 мг, от около 350 мг до около 850 мг, от около 350 мг до около 800 мг, от около 350 мг до около 750 мг, от около 350 мг до около 700 мг, от около 350 мг до около 650 мг, от около 350 мг до около 600 мг, от около 400 мг до около 900 мг, от около 400 мг до около 850 мг, от около 400 мг до около 800 мг, от около 400 мг до около 750 мг, от около 400 мг до около 700 мг, от около 400 мг до около 650 мг, от около 400 мг до около 600 мг, от около 450 мг до около 900 мг, от около 450 мг до около 850 мг, от около 450 мг до около 800 мг, от

около 450 мг до около 750 мг, от около 450 мг до около 700 мг, от около 450 мг до около 650 мг, от около 450 мг до около 600 мг, от около 500 мг до около 900 мг, от около 500 мг до около 850 мг, от около 500 мг до около 800 мг, от около 500 мг до около 700 мг, от около 500 мг до около 650 мг, от около 500 мг до около 600 мг, от около 550 мг до около 900 мг, от около 550 мг до около 850 мг, от около 550 мг до около 800 мг, от около 550 мг до около 750 мг, от около 550 мг до около 700 мг, от около 550 мг до около 650 мг, от около 550 мг до около 600 мг, от около 600 мг до около 900 мг, от около 600 мг до около 850 мг, от около 600 мг до около 800 мг, от около 600 мг до около 750 мг, от около 600 мг до около 700 мг, от около 600 мг до около 650 мг, от около 575 мг до около 625 мг, от около 575 мг до около 600 мг или от около 600 мг до около 625 мг антитела, вводимого приблизительно каждые две недели. В некоторых аспектах доза антитела, например, анти-PD-1 антитела (например, ниволумаба), составляет от около 400 мг до около 800 мг антитела, вводимого приблизительно каждые две недели. В некоторых аспектах доза антитела, например, анти-PD-1 антитела (например, ниволумаба), составляет от около 500 мг до около 700 мг антитела, вводимого приблизительно каждые две недели. В некоторых аспектах доза антитела, например, анти-PD-1 антитела (например, ниволумаба), составляет от около 550 мг до около 650 мг антитела, вводимого приблизительно каждые две недели. В некоторых аспектах доза антитела, например, анти-PD-1 антитела (например, ниволумаба), составляет от около 575 мг до около 625 мг антитела, вводимого приблизительно каждые две недели. **[0613]** В некоторых аспектах доза антитела составляет около 300 мг, около 350 мг, около 400 мг, около 450 мг, около 500 мг, около 510 мг, около 520 мг, около 530 мг, около 540 мг, около 550 мг, около 560 мг, около 570 мг, около 580 мг, около 590 мг, около 600 мг, около 610 мг, около 620 мг, около 630 мг, около 640 мг, около 650 мг, около 660 мг, около 670 мг, около 680 мг, около 690 мг, около 700 мг, около 710 мг, около 720 мг, около 730 мг, около 740 мг, около 750 мг, около 760 мг, около 770 мг, около 780 мг, около 790 мг, около 800 мг, около 810 мг, около 820 мг, около 830 мг, около 840 мг, около 850 мг, около 860 мг, около 870 мг, около 880 мг, около 890 мг или около 900 мг, вводимых приблизительно каждые две недели. В некоторых аспектах доза антитела составляет около 500 мг, вводимых приблизительно каждые две недели. В некоторых аспектах доза антитела составляет около 550 мг, вводимых приблизительно каждые две недели. В некоторых аспектах доза антитела составляет около 575 мг, вводимых приблизительно каждые две недели. В некоторых аспектах доза антитела составляет около 600 мг, вводимых

приблизительно каждые две недели. В некоторых аспектах доза антитела составляет около 625 мг, вводимых приблизительно каждые две недели. В некоторых аспектах доза антитела составляет около 650 мг, вводимых приблизительно каждые две недели. В некоторых аспектах доза антитела составляет около 700 мг, вводимых приблизительно каждые две недели.

[0614] В некоторых аспектах доза антитела включает однократную единичную дозу для подкожного введения около 600 мг. В некоторых аспектах доза антитела включает однократную единичную дозу для подкожного введения около 600 мг в общем вводимом объеме менее чем около 5 мл (например, менее чем около 4,5 мл, менее чем около 4,0 мл, менее чем около 3,5 мл, менее чем около 3,0 мл, менее чем около 2,5 мл или менее чем около 2,0 мл). В некоторых аспектах доза антитела включает две единичные дозы для подкожного введения, где каждая из двух единичных доз для подкожного введения включает около 300 мг антитела. В некоторых аспектах по меньшей мере одна из двух единичных доз для подкожного введения включает около 300 мг антитела в общем объеме менее 5 мл (например, менее 4,5 мл, менее 4,0 мл, менее 3,5 мл, менее 3,0 мл, менее 2,5 мл или менее 2,0 мл). В некоторых аспектах по меньшей мере одна из двух единичных доз для подкожного введения включает около 300 мг антитела в общем объеме менее чем около 2 мл. В некоторых аспектах две единичные дозы для подкожного введения вводятся субъекту в одно место тела. В некоторых аспектах две единичные дозы для подкожного введения вводятся субъекту в два разных места тела.

[0615] В некоторых аспектах доза около 600 мг антитела включает три единичные дозы для подкожного введения. В некоторых аспектах по меньшей мере одна из трех единичных доз для подкожного введения включает около 200 мг антитела. В некоторых аспектах каждая из трех единичных доз для подкожного введения включает около 200 мг антитела. В некоторых аспектах по меньшей мере одна из трех единичных доз для подкожного введения включает около 200 мг антитела в общем объеме менее 5 мл (например, менее 4,5 мл, менее 4,0 мл, менее 3,5 мл, менее 3,0 мл, менее 2,5 мл или менее 2,0 мл). В некоторых аспектах по меньшей мере две из трех единичных доз для подкожного введения вводятся субъекту по меньшей мере в два разных места тела. В некоторых аспектах первая единичная доза для подкожного введения и вторая единичная доза для подкожного введения вводятся в первое место тела, и третья единичная доза для подкожного введения вводится во второе место тела. В некоторых аспектах первая единичная доза для подкожного введения вводится в

первое место тела, вторая единичная доза для подкожного введения вводится во второе место тела, и третья единичная доза для подкожного введения вводится в третье место тела.

[0616] В некоторых аспектах доза около 600 мг антитела включает по меньшей мере четыре единичные дозы для подкожного введения. В некоторых аспектах по меньшей мере одна из четырех единичных доз для подкожного введения включает около 150 мг антитела. В некоторых аспектах по меньшей мере одна из четырех единичных доз для подкожного введения включает около 150 мг антитела в общем объеме менее 5 мл (например, менее 4,5 мл, менее 4,0 мл, менее 3,5 мл, менее 3,0 мл, менее 2,5 мл или менее 2,0 мл). В некоторых аспектах по меньшей мере две из четырех единичных доз для подкожного введения вводятся субъекту по меньшей мере в два разных места тела. В некоторых аспектах первая единичная доза для подкожного введения и вторая единичная доза для подкожного введения вводятся в первое место тела, и третья единичная доза для подкожного введения и четвертая единичная доза для подкожного введения вводятся во второе место тела. В некоторых аспектах первая единичная доза для подкожного введения вводится в первое место тела, вторая единичная доза для подкожного введения вводится во второе место тела, третья единичная доза для подкожного введения вводится в третье место тела, и четвертая единичная доза для подкожного введения вводится в четвертое место тела.

[0617] В некоторых аспектах доза антитела, например, анти-PD-1 антитела (например, ниволумаба), составляет от около 900 мг до около 1500 мг антитела, вводимого приблизительно каждые четыре недели. В некоторых аспектах доза антитела, например, анти-PD-1 антитела (например, ниволумаба), составляет от около 900 мг до около 1450 мг, от около 900 мг до около 1400 мг, от около 900 мг до около 1350 мг, от около 900 мг до около 1300 мг, от около 900 мг до около 1250 мг, от около 900 мг до около 1200 мг, от около 950 мг до около 1500 мг, от около 950 мг до около 1450 мг, от около 950 мг до около 1400 мг, от около 950 мг до около 1350 мг, от около 950 мг до около 1300 мг, от около 950 мг до около 1250 мг, от около 950 мг до около 1200 мг, от около 1000 мг до около 1500 мг, от около 1000 мг до около 1450 мг, от около 1000 мг до около 1400 мг, от около 1000 мг до около 1350 мг, от около 1000 мг до около 1300 мг, от около 1000 мг до около 1250 мг, от около 1000 мг до около 1200 мг, от около 1050 мг до около 1500 мг, от около 1050 мг до около 1450 мг, от около 1050 мг до около 1400 мг, от около 1050 мг до около 1350 мг, от около 1050 мг до около 1300 мг, от около 1050 мг до около 1250 мг, от около 1050 мг до около 1200 мг, от

около 1100 мг до около 1500 мг, от около 1100 мг до около 1450 мг, от около 1100 мг до около 1400 мг, от около 1100 мг до около 1350 мг, от около 1100 мг до около 1300 мг, от около 1100 мг до около 1250 мг, от около 1100 мг до около 1200 мг, от около 1150 мг до около 1500 мг, от около 1150 мг до около 1450 мг, от около 1150 мг до около 1400 мг, от около 1150 мг до около 1350 мг, от около 1150 мг до около 1300 мг, от около 1150 мг до около 1250 мг, от около 1150 мг до около 1200 мг, от около 1200 мг до около 1500 мг, от около 1200 мг до около 1450 мг, от около 1200 мг до около 1400 мг, от около 1200 мг до около 1350 мг, от около 1200 мг до около 1300 мг, от около 1200 мг до около 1250 мг, от около 1175 мг до около 1225 мг, от около 1175 мг до около 1200 мг или от около 1200 мг до около 1225 мг антитела, вводимого приблизительно каждые четыре недели. В некоторых аспектах доза антитела, например, анти-PD-1 антитела (например, ниволумаба), составляет от около 1000 мг до около 1400 мг антитела, вводимого приблизительно каждые четыре недели. В некоторых аспектах доза антитела, например, анти-PD-1 антитела (например, ниволумаба), составляет от около 1100 мг до около 1300 мг антитела, вводимого приблизительно каждые четыре недели. В некоторых аспектах доза антитела, например, анти-PD-1 антитела, составляет от около 1150 мг до около 1250 мг антитела, вводимого приблизительно каждые четыре недели. В некоторых аспектах доза антитела, например, анти-PD-1 антитела (например, ниволумаба), составляет от около 1175 мг до около 1225 мг антитела, вводимого приблизительно каждые четыре недели.

[0618] В некоторых аспектах доза антитела составляет около 900 мг, около 950 мг, около 1000 мг, около 1010 мг, около 1020 мг, около 1030 мг, около 1040 мг, около 1050 мг, около 1060 мг, около 1070 мг, около 1080 мг, около 1090 мг, около 1100 мг, около 1110 мг, около 1120 мг, около 1130 мг, около 1140 мг, около 1150 мг, около 1160 мг, около 1170 мг, около 1180 мг, около 1190 мг, около 1200 мг, около 1210 мг, около 1220 мг, около 1230 мг, около 1240 мг, около 1250 мг, около 1260 мг, около 1270 мг, около 1280 мг, около 1290 мг, около 1300 мг, около 1310 мг, около 1320 мг, около 1330 мг, около 1340 мг, около 1350 мг, около 1360 мг, около 1370 мг, около 1380 мг, около 1390 мг, около 1400 мг, около 1410 мг, около 1420 мг, около 1430 мг, около 1440 мг, около 1450 мг, около 1460 мг, около 1470 мг, около 1480 мг, около 1490 мг или около 1500 мг, вводимых приблизительно каждые четыре недели. В некоторых аспектах доза антитела составляет около 1100 мг, вводимых приблизительно каждые четыре недели. В некоторых аспектах доза антитела составляет около 1150 мг, вводимых приблизительно каждые четыре недели. В некоторых аспектах доза антитела

составляет около 1175 мг, вводимых приблизительно каждые четыре недели. В некоторых аспектах доза антитела составляет около 1200 мг, вводимых приблизительно каждые четыре недели. В некоторых аспектах доза антитела составляет около 1225 мг, вводимых приблизительно каждые четыре недели. В некоторых аспектах доза антитела составляет около 1250 мг, вводимых приблизительно каждые четыре недели. В некоторых аспектах доза антитела составляет около 1300 мг, вводимых приблизительно каждые четыре недели.

[0619] В некоторых аспектах доза антитела включает однократную единичную дозу для подкожного введения около 1200 мг. В некоторых аспектах доза антитела включает однократную единичную дозу для подкожного введения около 1200 мг в общем вводимом объеме менее чем около 5 мл (например, менее чем около 4,5 мл, менее чем около 4,0 мл, менее чем около 3,5 мл, менее чем около 3,0 мл, менее чем около 2,5 мл или менее чем около 2,0 мл).

[0620] В некоторых аспектах доза антитела включает две, три, четыре, шесть или по меньшей мере восемь единичных доз для подкожного введения. В некоторых аспектах доза антитела включает две единичные дозы для подкожного введения, где каждая из двух единичных доз для подкожного введения включает около 600 мг антитела. В некоторых аспектах по меньшей мере одна из двух единичных доз для подкожного введения включает около 600 мг антитела в общем объеме менее 5 мл (например, менее 4,5 мл, менее 4,0 мл, менее 3,5 мл, менее 3,0 мл, менее 2,5 мл или менее 2,0 мл). В некоторых аспектах по меньшей мере одна из двух единичных доз для подкожного введения включает около 600 мг антитела в общем объеме менее чем около 2 мл. В некоторых аспектах две единичные дозы для подкожного введения вводятся субъекту в одно место тела. В некоторых аспектах две единичные дозы для подкожного введения вводятся субъекту в два разных места тела.

[0621] В некоторых аспектах доза около 1200 мг антитела включает три единичные дозы для подкожного введения. В некоторых аспектах по меньшей мере одна из трех единичных доз для подкожного введения включает около 400 мг антитела. В некоторых аспектах каждая из трех единичных доз для подкожного введения включает около 400 мг антитела. В некоторых аспектах по меньшей мере одна из трех единичных доз для подкожного введения включает около 400 мг антитела в общем объеме около 5 мл (например, менее чем около 4,5 мл, менее чем около 4,0 мл, менее чем около 3,5 мл, менее чем около 3,0 мл, менее чем около 2,5 мл или менее чем около 2,0 мл). В некоторых аспектах по меньшей мере две из трех единичных доз для

подкожного введения вводятся субъекту по меньшей мере в два разных места тела. В некоторых аспектах первая единичная доза для подкожного введения и вторая единичная доза для подкожного введения вводятся в первое место тела, и третья единичная доза для подкожного введения вводится во второе место тела. В некоторых аспектах первая единичная доза для подкожного введения вводится в первое место тела, вторая единичная доза для подкожного введения вводится во второе место тела, и третья единичная доза для подкожного введения вводится в третье место тела.

[0622] В некоторых аспектах доза около 1200 мг антитела включает четыре единичные дозы для подкожного введения. В некоторых аспектах по меньшей мере одна из четырех единичных доз для подкожного введения включает около 300 мг антитела. В некоторых аспектах по меньшей мере одна из четырех единичных доз для подкожного введения включает около 300 мг антитела в общем объеме около 5 мл (например, менее чем около 4,5 мл, менее чем около 4,0 мл, менее чем около 3,5 мл, менее чем около 3,0 мл, менее чем около 2,5 мл или менее чем около 2,0 мл). В некоторых аспектах по меньшей мере две из четырех единичных доз для подкожного введения вводятся субъекту по меньшей мере в два разных места тела. В некоторых аспектах первая единичная доза для подкожного введения и вторая единичная доза для подкожного введения вводятся в первое место тела, и третья единичная доза для подкожного введения и четвертая единичная доза для подкожного введения вводятся во второе место тела. В некоторых аспектах первая единичная доза для подкожного введения вводится в первое место тела, вторая единичная доза для подкожного введения вводится во второе место тела, третья единичная доза для подкожного введения вводится в третье место тела, и четвертая единичная доза для подкожного введения вводится в четвертое место тела.

[0623] В некоторых аспектах доза около 1200 мг антитела включает шесть единичных доз для подкожного введения. В некоторых аспектах по меньшей мере одна из шести единичных доз для подкожного введения включает около 200 мг антитела. В некоторых аспектах по меньшей мере одна из шести единичных доз для подкожного введения включает около 200 мг антитела в общем объеме около 5 мл (например, менее чем около 4,5 мл, менее чем около 4,0 мл, менее чем около 3,5 мл, менее чем около 3,0 мл, менее чем около 2,5 мл или менее чем около 2,0 мл). В некоторых аспектах по меньшей мере две из шести единичных доз для подкожного введения вводятся субъекту по меньшей мере в два разных места тела. В некоторых аспектах первая единичная доза для подкожного введения и вторая единичная доза для подкожного

введения вводятся в первое место тела, третья единичная доза для подкожного введения и четвертая единичная доза для подкожного введения вводятся во второе место тела, и пятая единичная доза для подкожного введения и шестая единичная доза для подкожного введения вводятся в третье место тела. В некоторых аспектах первая единичная доза для подкожного введения вводится в первое место тела, вторая единичная доза для подкожного введения вводится во второе место тела, третья единичная доза для подкожного введения вводится в третье место тела, четвертая единичная доза для подкожного введения вводится в четвертое место тела, пятая единичная доза для подкожного введения вводится в пятое место тела, и шестая единичная доза для подкожного введения вводится в шестое место тела.

[0624] В некоторых аспектах доза около 1200 мг антитела включает по меньшей мере восемь единичных доз для подкожного введения. В некоторых аспектах по меньшей мере одна из восьми единичных доз для подкожного введения включает около 150 мг антитела. В некоторых аспектах по меньшей мере одна из восьми единичных доз для подкожного введения включает около 150 мг антитела в общем объеме около 5 мл (например, менее чем около 4,5 мл, менее чем около 4,0 мл, менее чем около 3,5 мл, менее чем около 3,0 мл, менее чем около 2,5 мл или менее чем около 2,0 мл). В некоторых аспектах по меньшей мере две из восьми единичных доз для подкожного введения вводятся субъекту по меньшей мере в два разных места тела. В некоторых аспектах первая единичная доза для подкожного введения и вторая единичная доза для подкожного введения вводятся в первое место тела, третья единичная доза для подкожного введения и четвертая единичная доза для подкожного введения вводятся во второе место тела, пятая единичная доза для подкожного введения и шестая единичная доза для подкожного введения вводятся в третье место тела, а седьмая единичная доза для подкожного введения и восьмая единичная доза для подкожного введения вводятся в четвертое место тела.

[0625] В некоторых аспектах доза антитела, например, анти-PD-1 антитела (например, ниволумаба), составляет от около 1800 мг до около 3000 мг антитела, вводимого приблизительно каждые восемь недель. В некоторых аспектах доза антитела составляет около 1900 мг, около 1950 мг, около 2000 мг, около 2010 мг, около 2020 мг, около 2030 мг, около 2040 мг, около 2050 мг, около 2060 мг, около 2070 мг, около 2080 мг, около 2090 мг, около 2100 мг, около 2110 мг, около 2120 мг, около 2130 мг, около 2140 мг, около 2150 мг, около 2160 мг, около 2170 мг, около 2180 мг, около 2190 мг, около 2200 мг, около 2210 мг, около 2220 мг, около 2230 мг, около 2240 мг,

около 2250 мг, около 2260 мг, около 2270 мг, около 2280 мг, около 2290 мг, около 2300 мг, около 2310 мг, около 2320 мг, около 2330 мг, около 2340 мг, около 2350 мг, около 2360 мг, около 2370 мг, около 2380 мг, около 2390 мг, около 2400 мг, около 2410 мг, около 2420 мг, около 2430 мг, около 2440 мг, около 2450 мг, около 2460 мг, около 2470 мг, около 2480 мг, около 2490 мг, около 2500 мг, около 2510 мг, около 2520 мг, около 2530 мг, около 2540 мг, около 2550 мг, около 2560 мг, около 2570 мг, около 2580 мг, около 2590 мг или около 2600 мг, вводимых приблизительно каждые четыре недели. В некоторых аспектах доза антитела составляет около 2300 мг, вводимых приблизительно каждые четыре недели. В некоторых аспектах доза антитела составляет около 2350 мг, вводимых приблизительно каждые четыре недели. В некоторых аспектах доза антитела составляет около 2375 мг, вводимых приблизительно каждые четыре недели. В некоторых аспектах доза антитела составляет около 2400 мг, вводимых приблизительно каждые четыре недели. В некоторых аспектах доза антитела составляет около 2425 мг, вводимых приблизительно каждые четыре недели. В некоторых аспектах доза антитела составляет около 2450 мг, вводимых приблизительно каждые четыре недели. В некоторых аспектах доза антитела составляет около 2475 мг, вводимых приблизительно каждые четыре недели. В некоторых аспектах доза антитела составляет около 2500 мг, вводимых приблизительно каждые четыре недели.

[0626] В некоторых аспектах доза антитела включает однократную единичную дозу для подкожного введения около 2400 мг. В некоторых аспектах доза антитела включает однократную единичную дозу для подкожного введения около 2400 мг в общем вводимом объеме менее чем около 5 мл (например, менее чем около 4,5 мл, менее чем около 4,0 мл, менее чем около 3,5 мл, менее чем около 3,0 мл, менее чем около 2,5 мл или менее чем около 2,0 мл).

[0627] В некоторых аспектах доза около 2400 мг антитела включает четыре единичные дозы для подкожного введения. В некоторых аспектах по меньшей мере одна из четырех единичных доз для подкожного введения включает около 600 мг антитела. В некоторых аспектах по меньшей мере одна из четырех единичных доз для подкожного введения включает около 600 мг антитела в общем объеме около 5 мл (например, менее чем около 4,5 мл, менее чем около 4,0 мл, менее чем около 3,5 мл, менее чем около 3,0 мл, менее чем около 2,5 мл или менее чем около 2,0 мл). В некоторых аспектах по меньшей мере две из четырех единичных доз для подкожного введения вводятся субъекту по меньшей мере в два разных места тела. В некоторых

аспектах первая единичная доза для подкожного введения и вторая единичная доза для подкожного введения вводятся в первое место тела, и третья единичная доза для подкожного введения и четвертая единичная доза для подкожного введения вводятся во второе место тела. В некоторых аспектах первая единичная доза для подкожного введения вводится в первое место тела, вторая единичная доза для подкожного введения вводится во второе место тела, третья единичная доза для подкожного введения вводится в третье место тела, а четвертая единичная доза для подкожного введения вводится в четвертое место тела.

[0628] В некоторых аспектах доза около 2400 мг антитела включает шесть единичных доз для подкожного введения. В некоторых аспектах по меньшей мере одна из шести единичных доз для подкожного введения включает около 400 мг антитела. В некоторых аспектах по меньшей мере одна из шести единичных доз для подкожного введения включает около 400 мг антитела в общем объеме около 5 мл (например, менее чем около 4,5 мл, менее чем около 4,0 мл, менее чем около 3,5 мл, менее чем около 3,0 мл, менее чем около 2,5 мл или менее чем около 2,0 мл). В некоторых аспектах по меньшей мере две из шести единичных доз для подкожного введения вводятся субъекту по меньшей мере в два разных места тела. В некоторых аспектах первая единичная доза для подкожного введения и вторая единичная доза для подкожного введения вводятся в первое место тела, третья единичная доза для подкожного введения и четвертая единичная доза для подкожного введения вводятся во второе место тела, и пятая единичная доза для подкожного введения и шестая единичная доза для подкожного введения вводятся в третье место тела. В некоторых аспектах первая единичная доза для подкожного введения вводится в первое место тела, вторая единичная доза для подкожного введения вводится во второе место тела, третья единичная доза для подкожного введения вводится в третье место тела, четвертая единичная доза для подкожного введения вводится в четвертое место тела, пятая единичная доза для подкожного введения вводится в пятое место тела, и шестая единичная доза для подкожного введения вводится в шестое место тела.

[0629] В некоторых аспектах доза около 2400 мг антитела включает по меньшей мере восемь единичных доз для подкожного введения. В некоторых аспектах по меньшей мере одна из восьми единичных доз для подкожного введения включает около 300 мг антитела. В некоторых аспектах по меньшей мере одна из восьми единичных доз для подкожного введения включает около 300 мг антитела в общем объеме около 5 мл (например, менее чем около 4,5 мл, менее чем около 4,0 мл, менее

чем около 3,5 мл, менее чем около 3,0 мл, менее чем около 2,5 мл или менее чем около 2,0 мл). В некоторых аспектах по меньшей мере две из восьми единичных доз для подкожного введения вводятся субъекту по меньшей мере в два разных места тела. В некоторых аспектах первая единичная доза для подкожного введения и вторая единичная доза для подкожного введения вводятся в первое место тела, третья единичная доза для подкожного введения и четвертая единичная доза для подкожного введения вводятся во второе место тела, пятая единичная доза для подкожного введения и шестая единичная доза для подкожного введения вводятся в третье место тела, и седьмая единичная доза для подкожного введения и восьмая единичная доза для подкожного введения вводятся в четвертое место тела.

[0630] В некоторых аспектах анти-PD-1 антитело включает пембролизумаб, который вводят подкожно один раз приблизительно каждую неделю, один раз приблизительно каждые две недели, один раз приблизительно каждые три недели или один раз приблизительно каждые четыре недели. В некоторых аспектах от около 100 мг до около 300 мг пембролизумаба вводят подкожно один раз приблизительно каждые две недели. В некоторых аспектах около 100 мг, около 110 мг, около 120 мг, около 130 мг, около 140 мг, около 150 мг, около 160 мг, около 170 мг, около 180 мг, около 190 мг, около 200 мг, около 210 мг, около 220 мг, около 230 мг, около 240 мг, около 250 мг, около 260 мг, около 270 мг, около 280 мг, около 290 мг или около 300 мг пембролизумаба вводят подкожно один раз приблизительно каждые две недели. В некоторых аспектах по меньшей мере около 150 мг пембролизумаба вводят подкожно один раз приблизительно каждые две недели. В некоторых аспектах по меньшей мере около 200 мг пембролизумаба вводят подкожно один раз приблизительно каждые две недели. В некоторых аспектах по меньшей мере около 300 мг пембролизумаба вводят подкожно один раз приблизительно каждые четыре недели. В некоторых аспектах по меньшей мере около 400 мг пембролизумаба вводят подкожно один раз приблизительно каждые четыре недели. В некоторых аспектах доза пембролизумаба вводится в объеме от по меньшей мере около 2 мл до по меньшей мере около 4 мл.

[0631] В некоторых аспектах анти-PD-1 антитело включает сазанлимаб, который вводится подкожно один раз приблизительно каждую неделю, один раз приблизительно каждые две недели, один раз приблизительно каждые три недели или один раз приблизительно каждые четыре недели. В некоторых аспектах от около 200 мг до около 400 мг сазанлимаба вводят подкожно один раз приблизительно каждые четыре недели. В некоторых аспектах около 200 мг, около 210 мг, около 220 мг, около

230 мг, около 240 мг, около 250 мг, около 260 мг, около 270 мг, около 280 мг, около 290 мг, около 300 мг, около 310 мг, около 320 мг, около 330 мг, около 340 мг, около 350 мг, около 360 мг, около 370 мг, около 380 мг, около 390 мг или около 400 мг сазанлимаба вводят подкожно один раз приблизительно каждые четыре недели. В некоторых аспектах по меньшей мере около 250 мг сазанлимаба вводят подкожно один раз приблизительно каждые четыре недели. В некоторых аспектах по меньшей мере около 200 мг сазанлимаба вводят подкожно один раз приблизительно каждые четыре недели. В некоторых аспектах по меньшей мере около 250 мг сазанлимаба вводят подкожно один раз приблизительно каждые четыре недели. В некоторых аспектах по меньшей мере около 300 мг сазанлимаба вводят подкожно один раз приблизительно каждые четыре недели. В некоторых аспектах доза сазанлимаба вводится в объеме по меньшей мере около 2 мл в одной инъекции. В некоторых аспектах доза сазанлимаба вводится в объеме по меньшей мере около 6 мл в по меньшей мере трех инъекциях.

[0632] В некоторых аспектах анти-PD-1 антитело включает KN035, которое вводится подкожно один раз приблизительно каждую неделю, один раз приблизительно каждые две недели, один раз приблизительно каждые три недели или один раз приблизительно каждые четыре недели. В некоторых аспектах от около 100 мг до около 200 мг KN035 вводят подкожно один раз приблизительно каждую неделю. В некоторых аспектах около 100 мг, около 110 мг, около 120 мг, около 130 мг, около 140 мг, около 150 мг, около 160 мг, около 170 мг, около 180 мг, около 190 мг или около 200 мг KN035 вводят подкожно один раз приблизительно каждую неделю. В некоторых аспектах по меньшей мере около 150 мг KN035 вводят подкожно один раз приблизительно каждую неделю. В некоторых аспектах около 2,5 мг/кг KN035 вводится подкожно один раз приблизительно каждую неделю. В некоторых аспектах от 200 мг до 400 мг KN035 вводят подкожно один раз приблизительно каждые три недели. В некоторых аспектах, около 200 мг, около 210 мг, около 220 мг, около 230 мг, около 240 мг, около 250 мг, около 260 мг, около 270 мг, около 280 мг, около 290 мг, около 300 мг, около 310 мг, около 320 мг, около 330 мг, около 340 мг, около 350 мг, около 360 мг, около 370 мг, около 380 мг, около 390 мг или около 400 мг KN035 вводят подкожно один раз приблизительно каждые три недели. В некоторых аспектах по меньшей мере около 300 мг KN035 вводят подкожно один раз приблизительно каждые три недели. В некоторых аспектах по меньшей мере около 300 мг KN035 вводят подкожно один раз приблизительно каждые четыре недели. В некоторых аспектах по меньшей мере около 400 мг KN035 вводят подкожно один раз приблизительно каждые

четыре недели. В некоторых аспектах доза KN035 вводится в объеме менее 1 мл.

III.A.2. Дозировка антитела анти-PD-L1

[0633] В некоторых аспектах настоящего раскрытия антитело включает анти-PD-L1 антитело. Любое анти-PD-L1 антитело, известное в данной области техники и/или раскрытое в настоящем документе, может быть использовано в способах, раскрытых в настоящем документе. В определенных аспектах анти-PD-L1 антитело включает атезолизумаб. В некоторых аспектах анти-PD-L1 антитело включает дурвалумаб. В некоторых аспектах анти-PD-L1 антитело включает авелумаб.

[0634] В некоторых аспектах доза антитела, например, анти-PD-L1 антитела, составляет от около 300 мг до около 900 мг антитела, вводимого приблизительно каждую неделю. В некоторых аспектах доза антитела, например, анти-PD-L1 антитела, составляет от около 300 мг до около 850 мг, от около 300 мг до около 800 мг, от около 300 мг до около 750 мг, от около 300 мг до около 700 мг, от около 300 мг до около 650 мг, от около 300 мг до около 600 мг, от около 350 мг до около 900 мг, от около 350 мг до около 850 мг, от около 350 мг до около 800 мг, от около 350 мг до около 750 мг, от около 350 мг до около 700 мг, от около 350 мг до около 650 мг, от около 350 мг до около 600 мг, от около 400 мг до около 900 мг, от около 400 мг до около 850 мг, от около 400 мг до около 800 мг, от около 400 мг до около 750 мг, от около 400 мг до около 700 мг, от около 400 мг до около 650 мг, от около 400 мг до около 600 мг, от около 450 мг до около 900 мг, от около 450 мг до около 850 мг, от около 450 мг до около 800 мг, от около 450 мг до около 750 мг, от около 450 мг до около 700 мг, от около 450 мг до около 650 мг, от около 450 мг до около 600 мг, от около 500 мг до около 900 мг, от около 500 мг до около 850 мг, от около 500 мг до около 800 мг, от около 500 мг до около 700 мг, от около 500 мг до около 650 мг, от около 500 мг до около 600 мг, от около 550 мг до около 900 мг, от около 550 мг до около 850 мг, от около 550 мг до около 800 мг, от около 550 мг до около 750 мг, от около 550 мг до около 700 мг, от около 550 мг до около 650 мг, от около 550 мг до около 600 мг, от около 600 мг до около 900 мг, от около 600 мг до около 850 мг, от около 600 мг до около 800 мг, от около 600 мг до около 750 мг, от около 600 мг до около 700 мг, от около 600 мг до около 650 мг, от около 575 мг до около 625 мг, от около 575 мг до около 600 мг или от около 600 мг до около 625 мг антитела, вводимого приблизительно каждую неделю. В некоторых аспектах доза антитела, например, анти-PD-L1 антитела, составляет от около 400 мг до около 800 мг антитела, вводимого приблизительно каждую неделю. В некоторых аспектах доза антитела, например, анти-PD-L1 антитела,

составляет от около 500 мг до около 700 мг антитела, вводимого приблизительно каждую неделю. В некоторых аспектах доза антитела, например, анти-PD-L1 антитела, составляет от около 550 мг до около 650 мг антитела, вводимого приблизительно каждую неделю. В некоторых аспектах доза антитела, например, анти-PD-L1 антитела, составляет от около 575 мг до около 625 мг антитела, вводимого приблизительно каждую неделю.

[0635] В некоторых аспектах доза антитела составляет около 300 мг, около 350 мг, около 400 мг, около 450 мг, около 500 мг, около 510 мг, около 520 мг, около 530 мг, около 540 мг, около 550 мг, около 560 мг, около 570 мг, около 580 мг, около 590 мг, около 600 мг, около 610 мг, около 620 мг, около 630 мг, около 640 мг, около 650 мг, около 660 мг, около 670 мг, около 680 мг, около 690 мг, около 700 мг, около 710 мг, около 720 мг, около 730 мг, около 740 мг, около 750 мг, около 760 мг, около 770 мг, около 780 мг, около 790 мг, около 800 мг, около 810 мг, около 820 мг, около 830 мг, около 840 мг, около 850 мг, около 860 мг, около 870 мг, около 880 мг, около 890 мг или около 900 мг, вводимых приблизительно каждую неделю. В некоторых аспектах доза антитела составляет около 500 мг, вводимых приблизительно каждую неделю. В некоторых аспектах доза антитела составляет около 550 мг, вводимых приблизительно каждую неделю. В некоторых аспектах доза антитела составляет около 575 мг, вводимых приблизительно каждую неделю. В некоторых аспектах доза антитела составляет около 600 мг, вводимых приблизительно каждую неделю. В некоторых аспектах доза антитела составляет около 625 мг, вводимых приблизительно каждую неделю. В некоторых аспектах доза антитела составляет около 650 мг, вводимых приблизительно каждую неделю. В некоторых аспектах доза антитела составляет около 700 мг, вводимых приблизительно каждую неделю.

[0636] В некоторых аспектах доза антитела включает однократную единичную дозу для подкожного введения около 600 мг. В некоторых аспектах доза антитела включает однократную единичную дозу для подкожного введения около 600 мг в общем вводимом объеме менее чем около 5 мл (например, менее чем около 4,5 мл, менее чем около 4,0 мл, менее чем около 3,5 мл, менее чем около 3,0 мл, менее чем около 2,5 мл или менее чем около 2,0 мл). В некоторых аспектах доза антитела включает две единичные дозы для подкожного введения, где каждая из двух единичных доз для подкожного введения включает около 300 мг антитела. В некоторых аспектах по меньшей мере одна из двух единичных доз для подкожного введения включает около 300 мг антитела в общем объеме менее 5 мл (например,

менее 4,5 мл, менее 4,0 мл, менее 3,5 мл, менее 3,0 мл, менее 2,5 мл или менее 2,0 мл). В некоторых аспектах по меньшей мере одна из двух единичных доз для подкожного введения включает около 300 мг антитела в общем объеме менее чем около 2 мл. В некоторых аспектах две единичные дозы для подкожного введения вводятся субъекту в одно место тела. В некоторых аспектах две единичные дозы для подкожного введения вводятся субъекту в два разных места тела.

[0637] В некоторых аспектах доза около 600 мг антитела включает три единичные дозы для подкожного введения. В некоторых аспектах по меньшей мере одна из трех единичных доз для подкожного введения включает около 200 мг антитела. В некоторых аспектах каждая из трех единичных доз для подкожного введения включает около 200 мг антитела. В некоторых аспектах по меньшей мере одна из трех единичных доз для подкожного введения включает около 200 мг антитела в общем объеме около 5 мл (например, менее чем около 4,5 мл, менее чем около 4,0 мл, менее чем около 3,5 мл, менее чем около 3,0 мл, менее чем около 2,5 мл или менее чем около 2,0 мл). В некоторых аспектах по меньшей мере две из трех единичных доз для подкожного введения вводятся субъекту по меньшей мере в два разных места тела. В некоторых аспектах первая единичная доза для подкожного введения и вторая единичная доза для подкожного введения вводятся в первое место тела, и третья единичная доза для подкожного введения вводится во второе место тела. В некоторых аспектах первая единичная доза для подкожного введения вводится в первое место тела, вторая единичная доза для подкожного введения вводится во второе место тела, и третья единичная доза для подкожного введения вводится в третье место тела.

[0638] В некоторых аспектах доза около 600 мг антитела включает по меньшей мере четыре единичные дозы для подкожного введения. В некоторых аспектах по меньшей мере одна из четырех единичных доз для подкожного введения включает около 150 мг антитела. В некоторых аспектах по меньшей мере одна из четырех единичных доз для подкожного введения включает около 150 мг антитела в общем объеме около 5 мл (например, менее чем около 4,5 мл, менее чем около 4,0 мл, менее чем около 3,5 мл, менее чем около 3,0 мл, менее чем около 2,5 мл или менее чем около 2,0 мл). В некоторых аспектах по меньшей мере две из четырех единичных доз для подкожного введения вводятся субъекту по меньшей мере в два разных места тела. В некоторых аспектах первая единичная доза для подкожного введения и вторая единичная доза для подкожного введения вводятся в первое место тела, и третья единичная доза для подкожного введения и четвертая единичная доза для подкожного

введения вводятся во второе место тела. В некоторых аспектах первая единичная доза для подкожного введения вводится в первое место тела, вторая единичная доза для подкожного введения вводится во второе место тела, третья единичная доза для подкожного введения вводится в третье место тела, и четвертая единичная доза для подкожного введения вводится в четвертое место тела.

[0639] В некоторых аспектах доза антитела, например, анти-PD-L1 антитела, составляет от около 900 мг до около 1800 мг антитела, вводимого приблизительно каждые две недели. В некоторых аспектах доза антитела, например, анти-PD-L1 антитела, составляет от около 900 мг до около 1750 мг, от около 900 мг до около 1700 мг, от около 900 мг до около 1650 мг, от около 900 мг до около 1600 мг, от около 900 мг до около 1550 мг, от около 900 мг до около 1500 мг, от около 900 мг до около 1450 мг, от около 900 мг до около 1400 мг, от около 900 мг до около 1350 мг, от около 900 мг до около 1300 мг, от около 900 мг до около 1250 мг, от около 900 мг до около 1200 мг, от около 950 мг до около 1500 мг, от около 950 мг до около 1450 мг, от около 950 мг до около 1400 мг, от около 950 мг до около 1350 мг, от около 950 мг до около 1300 мг, от около 950 мг до около 1250 мг, от около 950 мг до около 1200 мг, от около 1000 мг до около 1500 мг, от около 1000 мг до около 1450 мг, от около 1000 мг до около 1400 мг, от около 1000 мг до около 1350 мг, от около 1000 мг до около 1300 мг, от около 1000 мг до около 1250 мг, от около 1000 мг до около 1200 мг, от около 1050 мг до около 1500 мг, от около 1050 мг до около 1450 мг, от около 1050 мг до около 1400 мг, от около 1050 мг до около 1350 мг, от около 1050 мг до около 1300 мг, от около 1050 мг до около 1250 мг, от около 1050 мг до около 1200 мг, от около 1100 мг до около 1500 мг, от около 1100 мг до около 1450 мг, от около 1100 мг до около 1400 мг, от около 1100 мг до около 1350 мг, от около 1100 мг до около 1300 мг, от около 1100 мг до около 1250 мг, от около 1100 мг до около 1200 мг, от около 1150 мг до около 1500 мг, от около 1150 мг до около 1450 мг, от около 1150 мг до около 1400 мг, от около 1150 мг до около 1350 мг, от около 1150 мг до около 1300 мг, от около 1150 мг до около 1250 мг, от около 1150 мг до около 1200 мг, от около 1200 мг до около 1500 мг, от около 1200 мг до около 1450 мг, от около 1200 мг до около 1400 мг, от около 1200 мг до около 1350 мг, от около 1200 мг до около 1300 мг, от около 1200 мг до около 1250 мг, от около 1175 мг до около 1225 мг, от около 1175 мг до около 1200 мг или от около 1200 мг до около 1225 мг антитела, вводимого приблизительно каждые две недели. В некоторых аспектах доза антитела, например, анти-PD-L1 антитела, составляет от около 1000 мг до около 1400 мг антитела, вводимого приблизительно каждые две

недели. В некоторых аспектах доза антитела, например, анти-PD-L1 антитела, составляет от около 1100 мг до около 1300 мг антитела, вводимого приблизительно каждые две недели. В некоторых аспектах доза антитела, например, анти-PD-L1 антитела, составляет от около 1150 мг до около 1250 мг антитела, вводимого приблизительно каждые две недели. В некоторых аспектах доза антитела, например, анти-PD-L1 антитела, составляет от около 1175 мг до около 1225 мг антитела, вводимого приблизительно каждые две недели.

[0640] В некоторых аспектах доза антитела составляет около 900 мг, около 950 мг, около 1000 мг, около 1010 мг, около 1020 мг, около 1030 мг, около 1040 мг, около 1050 мг, около 1060 мг, около 1070 мг, около 1080 мг, около 1090 мг, около 1100 мг, около 1110 мг, около 1120 мг, около 1130 мг, около 1140 мг, около 1150 мг, около 1160 мг, около 1170 мг, около 1180 мг, около 1190 мг, около 1200 мг, около 1210 мг, около 1220 мг, около 1230 мг, около 1240 мг, около 1250 мг, около 1260 мг, около 1270 мг, около 1280 мг, около 1290 мг, около 1300 мг, около 1310 мг, около 1320 мг, около 1330 мг, около 1340 мг, около 1350 мг, около 1360 мг, около 1370 мг, около 1380 мг, около 1390 мг, около 1400 мг, около 1410 мг, около 1420 мг, около 1430 мг, около 1440 мг, около 1450 мг, около 1460 мг, около 1470 мг, около 1480 мг, около 1490 мг, около 1500 мг, около 1550 мг, около 1600 мг, около 1650 мг, около 1700 мг, около 1750 мг или около 1800 мг, вводимых приблизительно каждые две недели. В некоторых аспектах доза антитела составляет около 1100 мг, вводимых приблизительно каждые две недели. В некоторых аспектах доза антитела составляет около 1150 мг, вводимых приблизительно каждые две недели. В некоторых аспектах доза антитела составляет около 1175 мг, вводимых приблизительно каждые две недели. В некоторых аспектах доза антитела составляет около 1200 мг, вводимых приблизительно каждые две недели. В некоторых аспектах доза антитела составляет около 1225 мг, вводимых приблизительно каждые две недели. В некоторых аспектах доза антитела составляет около 1250 мг, вводимых приблизительно каждые две недели. В некоторых аспектах доза антитела составляет около 1300 мг, вводимых приблизительно каждые две недели.

[0641] В некоторых аспектах доза антитела включает однократную единичную дозу для подкожного введения около 1200 мг. В некоторых аспектах доза антитела включает однократную единичную дозу для подкожного введения около 1200 мг в общем вводимом объеме менее чем около 5 мл (например, менее чем около 4,5 мл, менее чем около 4,0 мл, менее чем около 3,5 мл, менее чем около 3,0 мл, менее чем

около 2,5 мл или менее чем около 2,0 мл).

[0642] В некоторых аспектах доза антитела включает две, три, четыре, шесть или по меньшей мере восемь единичных доз для подкожного введения. В некоторых аспектах доза антитела включает две единичные дозы для подкожного введения, где каждая из двух единичных доз для подкожного введения включает около 600 мг антитела. В некоторых аспектах по меньшей мере одна из двух единичных доз для подкожного введения включает около 600 мг антитела в общем объеме менее 5 мл (например, менее 4,5 мл, менее 4,0 мл, менее 3,5 мл, менее 3,0 мл, менее 2,5 мл или менее 2,0 мл). В некоторых аспектах по меньшей мере одна из двух единичных доз для подкожного введения включает около 600 мг антитела в общем объеме менее чем около 2 мл. В некоторых аспектах две единичные дозы для подкожного введения вводятся субъекту в одно место тела. В некоторых аспектах две единичные дозы для подкожного введения вводятся субъекту в два разных места тела.

[0643] В некоторых аспектах доза около 1200 мг антитела включает три единичные дозы для подкожного введения. В некоторых аспектах по меньшей мере одна из трех единичных доз для подкожного введения включает около 400 мг антитела. В некоторых аспектах каждая из трех единичных доз для подкожного введения включает около 400 мг антитела. В некоторых аспектах по меньшей мере одна из трех единичных доз для подкожного введения включает около 400 мг антитела в общем объеме около 5 мл (например, менее чем около 4,5 мл, менее чем около 4,0 мл, менее чем около 3,5 мл, менее чем около 3,0 мл, менее чем около 2,5 мл или менее чем около 2,0 мл). В некоторых аспектах по меньшей мере две из трех единичных доз для подкожного введения вводятся субъекту по меньшей мере в два разных места тела. В некоторых аспектах первая единичная доза для подкожного введения и вторая единичная доза для подкожного введения вводятся в первое место тела, и третья единичная доза для подкожного введения вводится во второе место тела. В некоторых аспектах первая единичная доза для подкожного введения вводится в первое место тела, вторая единичная доза для подкожного введения вводится во второе место тела, и третья единичная доза для подкожного введения вводится в третье место тела.

[0644] В некоторых аспектах доза около 1200 мг антитела включает четыре единичные дозы для подкожного введения. В некоторых аспектах по меньшей мере одна из четырех единичных доз для подкожного введения включает около 300 мг антитела. В некоторых аспектах по меньшей мере одна из четырех единичных доз для подкожного введения включает около 300 мг антитела в общем объеме около 5 мл

(например, менее чем около 4,5 мл, менее чем около 4,0 мл, менее чем около 3,5 мл, менее чем около 3,0 мл, менее чем около 2,5 мл или менее чем около 2,0 мл). В некоторых аспектах по меньшей мере две из четырех единичных доз для подкожного введения вводятся субъекту по меньшей мере в два разных места тела. В некоторых аспектах первая единичная доза для подкожного введения и вторая единичная доза для подкожного введения вводятся в первое место тела, и третья единичная доза для подкожного введения и четвертая единичная доза для подкожного введения вводятся во второе место тела. В некоторых аспектах первая единичная доза для подкожного введения вводится в первое место тела, вторая единичная доза для подкожного введения вводится во второе место тела, третья единичная доза для подкожного введения вводится в третье место тела, и четвертая единичная доза для подкожного введения вводится в четвертое место тела.

[0645] В некоторых аспектах доза около 1200 мг антитела включает шесть единичных доз для подкожного введения. В некоторых аспектах по меньшей мере одна из шести единичных доз для подкожного введения включает около 200 мг антитела. В некоторых аспектах по меньшей мере одна из шести единичных доз для подкожного введения включает около 200 мг антитела в общем объеме около 5 мл (например, менее чем около 4,5 мл, менее чем около 4,0 мл, менее чем около 3,5 мл, менее чем около 3,0 мл, менее чем около 2,5 мл или менее чем около 2,0 мл). В некоторых аспектах по меньшей мере две из шести единичных доз для подкожного введения вводятся субъекту по меньшей мере в два разных места тела. В некоторых аспектах первая единичная доза для подкожного введения и вторая единичная доза для подкожного введения вводятся в первое место тела, третья единичная доза для подкожного введения и четвертая единичная доза для подкожного введения вводятся во второе место тела, и пятая единичная доза для подкожного введения и шестая единичная доза для подкожного введения вводятся в третье место тела. В некоторых аспектах первая единичная доза для подкожного введения вводится в первое место тела, вторая единичная доза для подкожного введения вводится во второе место тела, третья единичная доза для подкожного введения вводится в третье место тела, четвертая единичная доза для подкожного введения вводится в четвертое место тела, пятая единичная доза для подкожного введения вводится в пятое место тела, и шестая единичная доза для подкожного введения вводится в шестое место тела.

[0646] В некоторых аспектах доза около 1200 мг антитела включает по меньшей мере восемь единичных доз для подкожного введения. В некоторых аспектах

по меньшей мере одна из восьми единичных доз для подкожного введения включает около 150 мг антитела. В некоторых аспектах по меньшей мере одна из восьми единичных доз для подкожного введения включает около 150 мг антитела в общем объеме около 5 мл (например, менее чем около 4,5 мл, менее чем около 4,0 мл, менее чем около 3,5 мл, менее чем около 3,0 мл, менее чем около 2,5 мл или менее чем около 2,0 мл). В некоторых аспектах по меньшей мере две из восьми единичных доз для подкожного введения вводятся субъекту по меньшей мере в два разных места тела. В некоторых аспектах первая единичная доза для подкожного введения и вторая единичная доза для подкожного введения вводятся в первое место тела, третья единичная доза для подкожного введения и четвертая единичная доза для подкожного введения вводятся во второе место тела, пятая единичная доза для подкожного введения и шестая единичная доза для подкожного введения вводятся в третье место тела, и седьмая единичная доза для подкожного введения и восьмая единичная доза для подкожного введения вводятся в четвертое место тела.

[0647] В некоторых аспектах две, три, четыре, шесть или по меньшей мере восемь единичных доз для подкожного введения вводятся в один и тот же день.

[0648] В некоторых аспектах доза антитела, например, анти-PD-L1 антитела, составляет от около 2100 мг до около 2700 мг антитела, вводимого приблизительно каждые четыре недели. В некоторых аспектах доза антитела, например, анти-PD-L1 антитела, составляет от около 2100 мг до около 2650 мг, от около 2100 мг до около 2600 мг, от около 2100 мг до около 2550 мг, от около 2100 мг до около 2500 мг, от около 2100 мг до около 2450 мг, от около 2100 мг до около 2400 мг, от около 2200 мг до около 2700 мг, от около 2200 мг до около 2650 мг, от около 2200 мг до около 2600 мг, от около 2200 мг до около 2550 мг, от около 2200 мг до около 2500 мг, от около 2200 мг до около 2450 мг, от около 2200 мг до около 2400 мг, от около 2300 мг до около 2700 мг, от около 2300 мг до около 2650 мг, от около 2300 мг до около 2600 мг, от около 2300 мг до около 2550 мг, от около 2300 мг до около 2500 мг, от около 2300 мг до около 2450 мг, от около 2300 мг до около 2400 мг, от около 2350 мг до около мг, от около 2350 мг до около 2700 мг, от около 2350 мг до около 2650 мг, от около 2350 мг до около 2600 мг, от около 2350 мг до около 2550 мг, от около 2350 мг до около 2500 мг, от около 2350 мг до около 2450 мг, от около 2350 мг до около 2400 мг, от около 2400 мг до около 2700 мг, от около 2400 мг до около 2650 мг, от около 2400 мг до около 2600 мг, от около 2400 мг до около 2550 мг, от около 2400 мг до около 2500 мг, от около 2400 мг до около 2450 мг, от около 2400 мг до около 2425 мг, от около 2375 мг

до около 2425 мг или от около 2375 мг до около 2400 мг антитела, вводимого приблизительно каждые четыре недели. В некоторых аспектах доза антитела, например, анти-PD-L1 антитела, составляет от около 2200 мг до около 2600 мг антитела, вводимого приблизительно каждые четыре недели. В некоторых аспектах доза антитела, например, анти-PD-L1 антитела, составляет от около 2300 мг до около 2500 мг антитела, вводимого приблизительно каждые четыре недели. В некоторых аспектах доза антитела, например, анти-PD-L1 антитела, составляет от около 2350 мг до около 2450 мг антитела, вводимого приблизительно каждые четыре недели. В некоторых аспектах доза антитела, например, анти-PD-L1 антитела, составляет от около 2375 мг до около 2425 мг антитела, вводимого приблизительно каждые четыре недели.

[0649] В некоторых аспектах доза антитела составляет около 2100 мг, около 2150 мг, около 2200 мг, около 2250 мг, около 2300 мг, около 2350 мг, около 2400 мг, около 2450 мг, около 2500 мг, около 2550 мг, около 2600 мг, около 2650 мг или около 2700 мг, вводимых приблизительно каждые четыре недели. В некоторых аспектах доза антитела составляет около 2300 мг, вводимых приблизительно каждые четыре недели. В некоторых аспектах доза антитела составляет около 2350 мг, вводимых приблизительно каждые четыре недели. В некоторых аспектах доза антитела составляет около 2400 мг, вводимых приблизительно каждые четыре недели. В некоторых аспектах доза антитела составляет около 2450 мг, вводимых приблизительно каждые четыре недели. В некоторых аспектах доза антитела составляет около 2500 мг, вводимых приблизительно каждые четыре недели.

[0650] В некоторых аспектах доза антитела включает две, три, четыре, шесть или по меньшей мере восемь единичных доз для подкожного введения. В некоторых аспектах доза антитела включает две единичные дозы для подкожного введения, где каждая из двух единичных доз для подкожного введения включает около 1200 мг антитела. В некоторых аспектах по меньшей мере одна из двух единичных доз для подкожного введения включает около 1200 мг антитела в общем объеме менее чем около 5 мл (например, менее чем около 4,5 мл, менее чем около 4,0 мл, менее чем около 3,5 мл, менее чем около 3,0 мл, менее чем около 2,5 мл или менее чем около 2,0 мл). В некоторых аспектах по меньшей мере одна из двух единичных доз для подкожного введения включает около 1200 мг антитела в общем объеме менее чем около 2 мл. В некоторых аспектах две единичные дозы для подкожного введения вводятся субъекту в одно место тела. В некоторых аспектах две единичные дозы для подкожного

введения вводятся субъекту в два разных места тела.

[0651] В некоторых аспектах доза около 2400 мг антитела включает три единичные дозы для подкожного введения. В некоторых аспектах по меньшей мере одна из трех единичных доз для подкожного введения включает около 800 мг антитела. В некоторых аспектах каждая из трех единичных доз для подкожного введения включает около 800 мг антитела. В некоторых аспектах по меньшей мере одна из трех единичных доз для подкожного введения включает около 800 мг антитела в общем объеме около 5 мл (например, менее чем около 4,5 мл, менее чем около 4,0 мл, менее чем около 3,5 мл, менее чем около 3,0 мл, менее чем около 2,5 мл или менее чем около 2,0 мл). В некоторых аспектах по меньшей мере две из трех единичных доз для подкожного введения вводятся субъекту по меньшей мере в два разных места тела. В некоторых аспектах первая единичная доза для подкожного введения и вторая единичная доза для подкожного введения вводятся в первое место тела, и третья единичная доза для подкожного введения вводится во второе место тела. В некоторых аспектах первая единичная доза для подкожного введения вводится в первое место тела, вторая единичная доза для подкожного введения вводится во второе место тела, и третья единичная доза для подкожного введения вводится в третье место тела.

[0652] В некоторых аспектах доза около 2400 мг антитела включает четыре единичные дозы для подкожного введения. В некоторых аспектах по меньшей мере одна из четырех единичных доз для подкожного введения включает около 600 мг антитела. В некоторых аспектах по меньшей мере одна из четырех единичных доз для подкожного введения включает около 600 мг антитела в общем объеме около 5 мл (например, менее чем около 4,5 мл, менее чем около 4,0 мл, менее чем около 3,5 мл, менее чем около 3,0 мл, менее чем около 2,5 мл или менее чем около 2,0 мл). В некоторых аспектах по меньшей мере две из четырех единичных доз для подкожного введения вводятся субъекту по меньшей мере в два разных места тела. В некоторых аспектах первая единичная доза для подкожного введения и вторая единичная доза для подкожного введения вводятся в первое место тела, и третья единичная доза для подкожного введения и четвертая единичная доза для подкожного введения вводятся во второе место тела. В некоторых аспектах первая единичная доза для подкожного введения вводится в первое место тела, вторая единичная доза для подкожного введения вводится во второе место тела, третья единичная доза для подкожного введения вводится в третье место тела, и четвертая единичная доза для подкожного введения вводится в четвертое место тела.

[0653] В некоторых аспектах доза около 2400 мг антитела включает шесть единичных доз для подкожного введения. В некоторых аспектах по меньшей мере одна из шести единичных доз для подкожного введения включает около 400 мг антитела. В некоторых аспектах по меньшей мере одна из шести единичных доз для подкожного введения включает около 400 мг антитела в общем объеме около 5 мл (например, менее чем около 4,5 мл, менее чем около 4,0 мл, менее чем около 3,5 мл, менее чем около 3,0 мл, менее чем около 2,5 мл или менее чем около 2,0 мл). В некоторых аспектах по меньшей мере две из шести единичных доз для подкожного введения вводятся субъекту по меньшей мере в два разных места тела. В некоторых аспектах первая единичная доза для подкожного введения и вторая единичная доза для подкожного введения вводятся в первое место тела, третья единичная доза для подкожного введения и четвертая единичная доза для подкожного введения вводятся во второе место тела, и пятая единичная доза для подкожного введения и шестая единичная доза для подкожного введения вводятся в третье место тела. В некоторых аспектах первая единичная доза для подкожного введения вводится в первое место тела, вторая единичная доза для подкожного введения вводится во второе место тела, третья единичная доза для подкожного введения вводится в третье место тела, четвертая единичная доза для подкожного введения вводится в четвертое место тела, пятая единичная доза для подкожного введения вводится в пятое место тела, и шестая единичная доза для подкожного введения вводится в шестое место тела.

[0654] В некоторых аспектах доза около 2400 мг антитела включает по меньшей мере восемь единичных доз для подкожного введения. В некоторых аспектах по меньшей мере одна из восьми единичных доз для подкожного введения включает около 300 мг антитела. В некоторых аспектах по меньшей мере одна из восьми единичных доз для подкожного введения включает около 300 мг антитела в общем объеме около 5 мл (например, менее чем около 4,5 мл, менее чем около 4,0 мл, менее чем около 3,5 мл, менее чем около 3,0 мл, менее чем около 2,5 мл или менее чем около 2,0 мл). В некоторых аспектах по меньшей мере две из восьми единичных доз для подкожного введения вводятся субъекту по меньшей мере в два разных места тела. В некоторых аспектах первая единичная доза для подкожного введения и вторая единичная доза для подкожного введения вводятся в первое место тела, третья единичная доза для подкожного введения и четвертая единичная доза для подкожного введения вводятся во второе место тела, пятая единичная доза для подкожного введения и шестая единичная доза для подкожного введения вводятся в третье место

тела, и седьмая единичная доза для подкожного введения и восьмая единичная доза для подкожного введения вводятся в четвертое место тела.

[0655] В некоторых аспектах две, три, четыре, шесть или по меньшей мере восемь единичных доз для подкожного введения вводятся в один и тот же день.

[0656] В некоторых аспектах анти-PD-L1 антитело включает атезолизумаб, который вводится подкожно один раз приблизительно каждую неделю, один раз приблизительно каждые две недели, один раз приблизительно каждые три недели или один раз приблизительно каждые четыре недели. В некоторых аспектах от около 1000 мг до около 1400 мг атезолизумаба вводят подкожно один раз приблизительно каждые две недели. В некоторых аспектах около 1100 мг, около 1110 мг, около 1120 мг, около 1130 мг, около 1140 мг, около 1150 мг, около 1160 мг, около 1170 мг, около 1180 мг, около 1190 мг, около 1200 мг, около 1210 мг, около 1220 мг, около 1230 мг, около 1240 мг, около 1250 мг, около 1260 мг, около 1270 мг, около 1280 мг, около 1290 мг или около 1300 мг атезолизумаба вводится подкожно один раз приблизительно каждые две недели. В некоторых аспектах по меньшей мере около 1200 мг атезолизумаба вводят подкожно один раз приблизительно каждые две недели. В некоторых аспектах от около 1700 мг до около 1900 мг атезолизумаба вводят подкожно один раз приблизительно каждые три недели. В некоторых аспектах около 1700 мг, около 1710 мг, около 1720 мг, около 1730 мг, около 1740 мг, около 1750 мг, около 1760 мг, около 1770 мг, около 1780 мг, около 1790 мг, около 1800 мг, около 1810 мг, около 1820 мг, около 1830 мг, около 1840 мг, около 1850 мг, около 1860 мг, около 1870 мг, около 1880 мг, около 1890 мг или около 1900 мг атезолизумаба вводят подкожно один раз приблизительно каждые три недели. В некоторых аспектах по меньшей мере около 1800 мг атезолизумаба вводят подкожно один раз приблизительно каждые три недели. В некоторых аспектах доза атезолизумаба вводится в объеме от по меньшей мере около 2 мл до по меньшей мере около 20 мл.

III.B. Комбинированные терапии

[0657] В некоторых аспектах настоящего раскрытия фармацевтическая композиция, раскрытая в настоящем документе, назначается в комбинации с дополнительной противораковой терапией. В некоторых аспектах настоящего раскрытия способы, раскрытые в настоящем документе, включают введение анти-PD-1 антитела (или анти-PD-L1 антитела) в комбинации с дополнительной противораковой терапией. Дополнительная противораковая терапия может включать любую терапию для лечения опухоли у субъекта и/или любую стандартную терапию,

как раскрыто в настоящем документе. В некоторых аспектах дополнительная противораковая терапия включает хирургическое вмешательство, лучевую терапию, химиотерапию, иммунотерапию или любую их комбинацию. В некоторых аспектах дополнительная противораковая терапия включает химиотерапию, в том числе любую химиотерапию, раскрытую в настоящем документе. В некоторых аспектах дополнительная противораковая терапия включает иммунотерапию. В некоторых аспектах дополнительная противораковая терапия включает введение антитела или его антигенсвязывающей части, которая специфически связывает CTLA-4, LAG-3, TIGIT, TIM3, NKG2a, OX40, ICOS, MICA, CD137, KIR, TGFβ, IL-10, IL-8, B7-H4, Fas-лиганд, CXCR4, мезотелин, CD27, GITR или любую их комбинацию. В некоторых аспектах дополнительная противораковая терапия включает введение IL-2 (например, модифицированного IL-2, например, пегилированного IL-2, например, бемпегальдеслейкина). В некоторых аспектах второе терапевтическое средство, третье терапевтическое средство или оба включают IL12-Fc (например, BMS-986415).

[0658] В некоторых аспектах фармацевтическая композиция (например, включающая анти-PD-1 антитело или анти-PD-L1 антитело) вводится подкожно, например, в соответствии с любым способом, раскрытым в настоящем документе, и дополнительная противораковая терапия вводится любым подходящим способом, известным в данной области техники. В некоторых аспектах фармацевтическую композицию (например, включающую анти-PD-1 антитело или анти-PD-L1 антитело) вводят подкожно, например, в соответствии с любым способом, раскрытым в настоящем документе, и дополнительная противораковая терапия вводится подкожно. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция (например, включающая анти-PD-1 антитело или анти-PD-L1 антитело) вводится подкожно, например, в соответствии с любым раскрытым в настоящем документе способом, и дополнительная противораковая терапия вводится внутривенно. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция (например, включающая анти-PD-1 антитело или анти-PD-L1 антитело) и дополнительная противораковая терапия вводятся одновременно. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция (например, включающая анти-PD-1 антитело или анти-PD-L1 антитело) и дополнительная противораковая терапия вводятся последовательно. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция (например, включающая анти-PD-1 антитело или анти-PD-L1 антитело) и дополнительная противораковая терапия вводятся в один и тот же день. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция (например, включающая

анти-PD-1 антитело или анти-PD-L1 антитело) и дополнительная противораковая терапия вводятся в разные дни.

[0659] В некоторых аспектах анти-PD-1 антитело или анти-PD-L1 антитело и дополнительная противораковая терапия, например, ингибитор контрольной точки, объединены в одном препарате.

[0660] В некоторых аспектах способ включает введение терапевтически эффективного количества анти-PD-1 антитела и анти-CTLA-4 антитела, например, ипилимумаба. В других аспектах способ включает введение терапевтически эффективного количества композиции, включающей анти-PD-L1 антитело и анти-CTLA-4 антитело. Человеческие моноклональные антитела, которые специфически связываются с CTLA-4 с высокой аффинностью, раскрыты в патенте США № 6,984,720. Другие анти-CTLA-4 моноклональные антитела описаны, например, в патентах США №№ 5,977,318, 6,051,227, 6,682,736 и 7,034,121 и международных публикациях №№ WO 2012/122444, WO 2007/113648, WO 2016/196237 и WO 2000/037504, все из которых включены в настоящий документ посредством ссылки во всей своей полноте. В определенных аспектах антитело CTLA-4 выбрано из группы, состоящей из ипилимумаба (также известного как YERVOY®, MDX-010, 10D1; *см.* патент США № 6,984,720), MK-1308 (Merck), AGEN-1884 (Agenus Inc.; *см.* WO 2016/196237) и тремелимумаба (AstraZeneca; также известного как тицилимумаб, CP-675,206; *см.* WO 2000/037504 и Ribas, *Update Cancer Ther. 2(3)*: 133-39 (2007)). В конкретных аспектах анти-CTLA-4 антитело представляет собой ипилимумаб. В конкретных аспектах антитело CTLA-4 представляет собой тремелимумаб. В конкретных аспектах антитело CTLA-4 представляет собой MK-1308. В конкретных аспектах антитело CTLA-4 представляет собой AGEN-1884.

[0661] В некоторых аспектах способ включает введение терапевтически эффективного количества анти-PD-1 антитела и анти-LAG-3 антитела. В других аспектах способ включает введение терапевтически эффективного количества одного состава, включающего анти-PD-1 антитело и анти-LAG-3 антитело, например, релатилимаб. В некоторых аспектах анти-LAG-3 антитело представляет собой релатилимаб, например, BMS-986016, как описано в PCT/US13/48999, положения которого включены в настоящий документ посредством ссылки. В некоторых аспектах анти-LAG-3 антитело перекрестно конкурирует с релатилимабом за связывание с человеческим LAG-3. В некоторых аспектах анти-LAG-3 антитело связывается с тем же эпитопом, что и релатилимаб. В некоторых аспектах анти-LAG-3 антитело является

биоаналогом релатилимаба. В некоторых аспектах анти-LAG-3 антитело представляет собой LAG-525, MK-4280, REGN3767, TSR-033, TSR-075, Sym022, FS-118 или любую их комбинацию.

[0662] В некоторых аспектах способ включает введение терапевтически эффективного количества фармацевтической композиции (например, включающей анти-PD-1 антитело или анти-PD- L1 антитело) в соответствии с любым раскрытым в данном описании способом и химиотерапию. В некоторых аспектах химиотерапия включает терапию на основе платины. В некоторых аспектах терапия на основе платины включает антинеопластический препарат на основе платины, выбранный из группы, состоящей из цисплатина, карбоплатина, оксалиплатина, недаплатина, триплатина тетранитрата, фенантриплатина, пикоплатина, сатраплатина и любой их комбинации. В некоторых аспектах терапия на основе платины включает цисплатин. В одном конкретном аспекте терапия на основе платины включает карбоплатин. В некоторых аспектах химиотерапия включает противораковое средство, выбранное из группы, состоящей из средства на основе платины (например, цисплатин, карбоплатин), таксанового препарата (например, паклитаксел, паклитаксел, связанный с альбумином, доцетаксел), винорелбина, винбластина, этопозида, пеметрекседа, гемцитабина, бевацизумаба (AVASTIN®), эрлотиниба (TARCEVA®), кризотиниба (XALKORI®), цетуксимаба (ERBITEДХ®) и любой их комбинации. В некоторых аспектах химиотерапия включает двухкомпонентную (doublet) химиотерапию на основе препаратов платины.

III.C. Опухоли

[0663] Некоторые аспекты настоящего раскрытия относятся к способам лечения субъекта, содержащим доставку фармацевтической композиции, раскрытой в настоящем документе (например, включающей антитело против PD-1 или антитело против PD-L1), при этом субъект поражен раком (например, опухолью, имеющей злокачественное происхождение). В некоторых аспектах фармацевтическая композиция вводится подкожно. В некоторых аспектах опухоль происходит от рака, выбранного из группы, состоящей из плоскоклеточной карциномы, мелкоклеточного рака легкого (МРЛ), немелкоклеточного рака легкого (НМРЛ), сквамозного НМРЛ, несквамозного НМРЛ, глиомы, рака желудочно-кишечного тракта, рака почек, прозрачно-клеточной карциномы, рака яичников, рака печени, колоректального рака, рака эндометрия, рака почек, почечно-клеточной карциномы (ПКР), рака простаты,

гормонорефрактерной аденокарциномы простаты, рака щитовидной железы, нейробластомы, рака поджелудочной железы, глиобластомы, мультиформной глиобластомы, рака шейки матки, рака желудка, рака мочевого пузыря, гепатомы, рака молочной железы, карциномы толстой кишки, рака головы и шеи, рака желудка, герминогенной опухоли, детской саркомы, синоназального естественного киллера, меланомы, рака костей, рака кожи, рака матки, рака анальной области, рака яичек, карциномы фаллопиевых труб, карциномы эндометрия, карциномы шейки матки, карциномы влагалища, карциномы вульвы, рака пищевода, рака тонкой кишки, рака эндокринной системы, рака паращитовидной железы, рака надпочечников, саркомы мягких тканей, рака уретры, рака полового члена, рака прямой кишки, солидных опухолей детского возраста, рака мочеточника, карциномы почечной лоханки, новообразования центральной нервной системы (ЦНС), первичной лимфомы ЦНС, опухолевого ангиогенеза, опухоли оси позвоночника, рака мозга, глиомы ствола мозга, аденомы гипофиза, саркомы Капоши, эпидермоидного рака, плоскоклеточного рака, рака, вызванного окружающей средой, включая рак, вызванный асбестом, рака, связанного с вирусами, или рака вирусного происхождения (например, вирус папилломы человека (опухоли, связанные с ВПЧ или вызванные ВПЧ)) и любой их комбинации. В некоторых аспектах субъект получил один, два, три, четыре, пять или более предшествующих способов лечения рака. В других аспектах субъект не получает лечения. В некоторых аспектах у субъекта наблюдалось прогрессирование заболевания при других видах лечения рака. В некоторых аспектах предшествующее лечение рака включало иммунотерапию. В других аспектах предшествующее лечение рака включало химиотерапию. В некоторых аспектах опухоль рецидивировала. В некоторых аспектах опухоль является метастатической.В других аспектах опухоль не является метастатической. В некоторых аспектах опухоль является местно-распространенной.

[0664] В некоторых аспектах субъект ранее получал терапию для лечения опухоли, и опухоль является рецидивирующей или рефрактерной. В некоторых аспектах по меньшей мере одна предшествующая терапия включает стандартную терапию. В некоторых аспектах по меньшей мере одна предшествующая терапия включает хирургическое вмешательство, лучевую терапию, химиотерапию, иммунотерапию или любую их комбинацию. В некоторых аспектах по меньшей мере одна предшествующая терапия включает химиотерапию. В некоторых аспектах субъект получил предшествующую иммуно-онкологическую (I-O) терапию для лечения опухоли, и опухоль является рецидивирующей или рефрактерной. В некоторых

аспектах субъект получил более одной предшествующей терапии для лечения опухоли, и у субъекта наблюдается рецидив или рефрактерность. В других аспектах субъект получил терапию анти-PD-1 или анти-PD-L1 антителами.

[0665] В некоторых аспектах предыдущая линия терапии включает химиотерапию. В некоторых аспектах химиотерапия включает терапию на основе платины. В некоторых аспектах терапия на основе платины включает антинеопластический препарат на основе платины, выбранный из группы, состоящей из цисплатина, карбоплатина, оксалиплатина, недаплатина, триплатина тетранитрата, фенантриплатина, пикоплатина, сатраплатина и любой их комбинации. В некоторых аспектах терапия на основе платины включает цисплатин. В одном конкретном аспекте терапия на основе платины включает карбоплатин.

[0666] В некоторых аспектах по меньшей мере одна предшествующая терапия выбрана из терапии, включающей введение противоракового средства, выбранного из группы, состоящей из средства на основе платины (например, цисплатина, карбоплатина), таксанового препарата (например, паклитаксел, паклитаксел, связанный с альбумином, доцетаксел), винорелбина, винбластина, этопозида, пеметрекседа, гемцитабина, бевацизумаба (AVASTIN®), эрлотиниба (TARCEVA®), кризотиниба (XALKORI®), цетуксимаба (ERBITUX®) и любой их комбинации. В некоторых аспектах по меньшей мере одна предшествующая терапия включает двухкомпонентную (doublet) химиотерапию на основе препаратов платины.

[0667] В некоторых аспектах у субъекта наблюдается прогрессирование заболевания после по меньшей мере одной предшествующей терапии. В некоторых аспектах субъект получил по меньшей мере две предшествующие терапии, по меньшей мере три предшествующие терапии, по меньшей мере четыре предшествующие терапии или по меньшей мере пять предшествующих терапий. В некоторых аспектах субъект получил по меньшей мере две предшествующие терапии. В одном аспекте у субъекта наблюдается прогрессирование заболевания после по меньшей мере двух предшествующих терапий. В некоторых аспектах по меньшей мере две предшествующие терапии включают первую предшествующую терапию и вторую предшествующую терапию, где у субъекта наблюдается прогрессирование заболевания после первой предшествующей терапии и/или второй предшествующей терапии, и где первая предшествующая терапия включает хирургию, лучевую терапию, химиотерапию, иммунотерапию или любую их комбинацию; и где вторая предшествующая терапия включает хирургию, лучевую терапию, химиотерапию,

иммунотерапию или любую их комбинацию. В некоторых аспектах первая предшествующая терапия включает двухкомпонентную химиотерапию на основе препаратов платины., и вторая предшествующая терапия включает однокомпонентную химиотерапию. В некоторых аспектах однокомпонентная химиотерапия включает доцетаксел.

[0668] В определенных аспектах опухоль является PD-L1-позитивной опухолью. "PD-L1 позитивная", как используется в настоящем документе, может быть взаимозаменяемо использовано с "экспрессией PD-L1, составляющей по меньшей мере около 1%". Экспрессия PD-L1 может быть измерена любыми способами, известными в данной области техники. В некоторых аспектах экспрессия PD-L1 измеряется автоматизированным IHC-анализом. Таким образом, PD-L1-позитивные опухоли могут иметь по меньшей мере около 1%, по меньшей мере около 2%, по меньшей мере около 5%, по меньшей мере около 10%, по меньшей мере около 20%, по меньшей мере около 25%, по меньшей мере около 30%, по меньшей мере около 40%, по меньшей мере около 50%, по меньшей мере около 60%, по меньшей мере около 70%, по меньшей мере около 75%, по меньшей мере около 80%, по меньшей мере около 85%, по меньшей мере около 90%, по меньшей мере около 95% или около 100% опухолевых клеток, экспрессирующих PD-L1, как измерено автоматизированным IHC (иммуногистохимическим) анализом. В определенных аспектах "PD-L1 положительный" означает, что имеется по меньшей мере 100 клеток, экспрессирующих PD-L1 на поверхности клеток.

[0669] Чтобы оценить экспрессию PD-L1, в одном аспекте образец ткани для исследования получают от пациента, нуждающегося в терапии, раскрытой в настоящем документе. В другом аспекте оценка экспрессии PD-L1 проводится без получения образца ткани для исследования. В некоторых аспектах выбор подходящего пациента включает (i) необязательно предоставление образца исследуемой ткани, полученного от пациента с раком ткани, причем образец исследуемой ткани включает опухолевые клетки и/или инфильтрирующие опухоль воспалительные клетки; и (ii) оценку доли клеток в образце исследуемой ткани, экспрессирующих PD-L1 на поверхности клеток, на основании оценки того, что доля клеток в образце исследуемой ткани, экспрессирующих PD-L1 на поверхности клеток, превышает заранее определенный пороговый уровень.

[0670] В любом из способов, включающих измерение экспрессии PD-L1 в исследуемом образце ткани, однако, следует понимать, что стадия, включающая

предоставление исследуемого образца ткани, полученного от пациента, является необязательной стадией. Также следует понимать, что в некоторых аспектах стадия "измерения" или "оценки" для идентификации или определения количества или доли клеток в образце исследуемой ткани, экспрессирующих PD-L1 (например, экспрессия PD-L1 на поверхности клеток), выполняется с помощью трансформационного способа анализа экспрессии PD-L1, например, с помощью анализа обратной транскриптазы-полимеразной цепной реакции (reverse transcriptase-polymerase chain reaction (RT-PCR)) или IHC-анализа. В некоторых других аспектах трансформационная стадия не проводится, и экспрессия PD-L1 оценивается, например, путем просмотра отчета о результатах анализа, полученного в лаборатории. В определенных аспектах стадии способов, вплоть до оценки экспрессии PD-L1, обеспечивают промежуточный результат, который может быть предоставлен врачу или другому медицинскому работнику для использования при выборе подходящего кандидата для терапии анти-PD-1 антителом или анти-PD-L1 антителом. В некоторых аспектах стадии, обеспечивающие промежуточный результат, выполняются практикующим врачом или лицом, действующим под руководством практикующего врача. В других аспектах данные стадии выполняются независимой лабораторией или независимым лицом, таким как лаборант.

[0671] В определенных аспектах любого из настоящих способов доля клеток, экспрессирующих PD-L1, оценивается путем проведения анализа для определения присутствия РНК PD-L1. В дальнейших аспектах присутствие РНК PD-L1 определяют с помощью RT-PCR, гибридизации *in situ* или защиты РНК. В других аспектах доля клеток, экспрессирующих PD-L1, оценивается путем проведения анализа для определения присутствия полипептида PD-L1. В других аспектах присутствие полипептида PD-L1 определяется с помощью иммуногистохимии (IHC), иммуноферментного анализа (enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)), визуализации *in vivo* или проточной цитометрии. В некоторых аспектах экспрессия PD-L1 определяетсяс помощью IHC. В других аспектах всех данных способов экспрессию PD-L1 на поверхности клеток определяют с помощью, например, IHC или визуализации *in vivo.*

[0672] Способы визуализации стали важными инструментами в исследовании и лечении рака. Последние разработки систем молекулярной визуализации, включая позитронно-эмиссионную томографию (positron emission tomography (PET)), однофотонную эмиссионную компьютерную томографию (single-photon emission

computed tomography (SPECT)), флуоресцентную отражательную визуализацию (fluorescence reflectance imaging (FRI)), флуоресцентно-опосредованную томографию (fluorescence-mediated tomography (FMT)), биолюминесцентную визуализацию (bioluminescence imaging (BLI)), лазерную сканирующую конфокальную микроскопию (laser-scanning confocal microscopy (LSCM)) и многофотонную микроскопию (multiphoton microscopy (MPM)), вероятно, предвещают еще большее использование данных способов в исследованиях рака. Некоторые из данных систем молекулярной визуализации позволяют врачам не только увидеть, где находится опухоль в организме, но и визуализировать экспрессию и активность определенных молекул, клеток и биологических процессов, которые влияют на поведение опухоли и/или реакцию на терапевтические средства (Condeelis and Weissleder, "In vivo imaging in cancer," *Cold Spring Harb. Perspect. Biol. 2(12)*:a003848 (2010)). Специфичность антител в сочетании с чувствительностью и разрешением PET делает иммуноPET-визуализацию особенно привлекательной для мониторинга и оценки экспрессии антигенов в образцах тканей (McCabe and Wu, "Positive progress in immunoPET—not just a coincidence," *Cancer Biother. Radiopharm. 25(3)*:253-61 (2010); Olafsen *et al.*, "ImmunoPET imaging of B-cell lymphoma using 124I-anti-CD20 scFv dimers (diabodies)," *Protein Eng. Des. Sel. 23(4)*:243-9 (2010)). В определенных аспектах любого из настоящих способов экспрессию PD-L1 оценивают с помощью иммуноPET-визуализации. В определенных аспектах любого из настоящих способов доля клеток в исследуемом образце ткани, экспрессирующих PD-L1, оценивается путем проведения анализа для определения присутствия полипептида PD-L1 на поверхности клеток в исследуемом образце ткани. В некоторых аспектах образец исследуемой ткани представляет собой образец ткани FFPE. В других аспектах присутствие полипептида PD-L1 определяется с помощью IHC-анализа. В других аспектах IHC-анализ проводится с помощью автоматизированного процесса. В некоторых аспектах IHC-анализ проводится с использованием анти-PD-L1 моноклонального антитела для связывания с полипептидом PD-L1.

[0673] В одном аспекте настоящих способов автоматизированный IHC-способ используется для анализа экспрессии PD-L1 на поверхности клеток в образцах тканей FFPE. Настоящее раскрытие предоставляет способы обнаружения присутствия антигена PD-L1 человека в исследуемом образце ткани или количественного определения уровня антигена PD-L1 человека или доли клеток в образце, экспрессирующих антиген, которые включают контакт исследуемого образца и

отрицательного контрольного образца с моноклональным антителом, специфически связывающимся с PD-L1 человека, в условиях, обеспечивающих образование комплекса между антителом или его частью и PD-L1 человека. В некоторых аспектах образцы тканей для исследования и контроля представляют собой образцы FFPE. Затем выявляют образование комплекса, при этом разница в образовании комплекса между исследуемым образцом и отрицательным контрольным образцом свидетельствует о присутствии антигена PD-L1 человека в образце. Для количественного определения экспрессии PD-L1 используются различные способы.

[0674] В конкретном аспекте автоматизированный IHC-способ включает: (a) депарафинизацию и регидратацию смонтированных участков ткани в автостейнере; (b) извлечение антигена с помощью камеры деклоакинга и буфера pH 6, нагретого до 110°C в течение 10 минут; (c) установку реагентов на автостейнер; и (d) запуск автостейнера, включающий стадии нейтрализации эндогенной пероксидазы в образце ткани; блокирование неспецифических сайтов связывания белка на предметных стеклах; инкубация предметных стекол с первичным антителом; инкубация с постпервичным блокирующим агентом; инкубация с NovoLink Polymer; добавление хромогенного субстрата и проявление; и контрастирование гематоксилином.

[0675] Для оценки экспрессии PD-L1 в образцах опухолевой ткани патологоанатом рассматривает количество мембранных PD-L1^{++} опухолевых клеток в каждом поле под микроскопом и мысленно оценивает процент клеток, которые являются положительными, затем усредняет их для получения окончательного процента. Различная интенсивность окрашивания определяется как 0/отрицательная, 1+/слабая, 2+/умеренная и 3+/сильная. Как правило, сначала процентные значения присваиваются графам 0 и 3+, а затем рассматриваются промежуточные значения интенсивности 1+ и 2+. Для очень неоднородных тканей образец делится на зоны, и каждая зона оценивается отдельно и затем объединяется в один набор процентных значений. В каждой зоне определяется процент отрицательных и положительных клеток для различных интенсивностей окрашивания, и для каждой зоны определяется медианное значение. Окончательное процентное значение присваивается ткани для каждой категории интенсивности окрашивания: отрицательная, 1+, 2+ и 3+. Сумма всех интенсивностей окрашивания должна быть равна 100%. В одном аспекте пороговое количество клеток, которые должны быть PD-L1 положительными, составляет по меньшей мере около 100, по меньшей мере около 125, по меньшей мере около 150, по меньшей мере около 175 или по меньшей мере около 200 клеток. В

некоторых аспектах пороговое количество клеток, которые должны быть PD-L1-позитивными, составляет по меньшей мере около 100 клеток.

[0676] Окрашивание также оценивают в инфильтрирующих опухоль воспалительных клетках, таких как макрофаги и лимфоциты. В большинстве случаев макрофаги служат внутренним положительным контролем, поскольку окрашивание наблюдается у большей части макрофагов. В большинстве случаев макрофаги служат внутренним положительным контролем, поскольку окрашивание наблюдается у большей части макрофагов. Хотя окрашивание с интенсивностью 3+ не требуется, следует учитывать отсутствие окрашивания макрофагов, чтобы исключить любую техническую ошибку. Макрофаги и лимфоциты оценивают на окрашивание плазматической мембраны и регистрируют только для всех образцов как положительные или отрицательные для каждой категории клеток. Окрашивание также характеризуется в соответствии с обозначением иммунных клеток снаружи/внутри опухоли. «Внутри» означает, что иммунная клетка находится внутри опухолевой ткани и/или на границах области опухоли, не будучи физически интеркалированной среди опухолевых клеток. «Снаружи» означает отсутствие физической связи с опухолью, и иммунные клетки находятся на периферии, связанной с соединительной или любой связанной соседней тканью.

[0677] В некоторых аспектах данных способов оценки образцы оцениваются двумя патологоанатомами, работающими независимо друг от друга, и оценки впоследствии объединяются. В некоторых других аспектах идентификация положительных и отрицательных клеток оценивается с помощью соответствующего программного обеспечения.

[0678] В качестве более количественной оценки данных IHC используется анализ гистологического счета histoscore (также описываемый как H-score). Гистологический счет рассчитывается следующим образом:

Гистологический счет = [(% опухоли x 1 (низкая интенсивность)) + (% опухоли x 2 (средняя интенсивность)) + (% опухоли x 3 (высокая интенсивность)]

[0679] Для определения гистологического счета патологоанатом оценивает процент окрашенных клеток в каждой категории интенсивности в образце. Поскольку экспрессия большинства биомаркеров неоднородна, гистологический счет является более точным представлением общей экспрессии. Окончательный диапазон гистологического счета составляет от 0 (отсутствие экспрессии) до 300 (максимальная экспрессия).

[0680] Альтернативным способом количественной оценки экспрессии PD-L1 в исследуемом образце ткани IHC-анализом является определение скорректированного показателя воспаления (adjusted inflammation score (AIS)), определяемого как плотность воспаления, умноженная на процент экспрессии PD-L1 инфильтрирующими опухоль воспалительными клетками (Taube *et al.*, "Colocalization of inflammatory response with B7-h1 expression in human melanocytic lesions supports an adaptive resistance mechanism of immune escape," *Sci. Transl. Med. 4(127)*:127ra37 (2012)).

III.D. Инфекционные заболевания

[0681] Некоторые аспекты настоящего раскрытия относятся к способам лечения нуждающегося в этом субъекта, включающим доставку фармацевтической композиции, раскрытой в настоящем документе (например, включающей анти-PD-1 антитело или анти-PD-L1 антитело), когда субъект поражен инфекционным заболеванием. В некоторых аспектах фармацевтическая композиция вводится подкожно. В некоторых вариантах осуществления инфекционное заболевание вызвано патогенным вирусом. В некоторых вариантах осуществления изобретения патогенный вирус выбран из группы, состоящей из вируса иммунодефицита человека (ВИЧ), гепатита A, гепатита B, гепатита C, вируса герпеса, аденовируса, вируса гриппа, флавивирусов, эховируса, риновируса, вируса Коксаки, коронавируса (например, COVID-19 и/или SARS), респираторно-синцитиального вируса, вирус паротита, ротавируса, вируса кори, вируса краснухи, парвовируса, вируса коровьей оспы, T-лимфотропного (HTL) вируса человека, вируса денге, папилломавируса, вируса моллюска, полиовируса, вируса бешенства, вируса Джона Каннингема (John Cunningham (JC)) и вируса арбовирусного энцефалита. В некоторых вариантах осуществления инфекционное заболевание вызвано патогенными бактериями. В некоторых вариантах осуществления патогенная бактерия выбрана из группы, состоящей из хламидий, риккетсий, микобактерий, стафилококков, стрептококков, пневмококков, менингококков и гонококков, клебсиеллы, протеуса, серратии, псевдомонаса, легионеллы, дифтерии, сальмонеллы, бацилл, холеры, столбняка, ботулизма, сибирской язвы, чумы, лептоспироза и бактерий болезни Лайма. В некоторых вариантах осуществления инфекционное заболевание вызвано патогенными грибами. В некоторых вариантах осуществления патогенная бактерия выбрана из группы, состоящей из Candida (albicans, krusei, glabrata, tropicalis и т. д.), Cryptococcus neoformans, Aspergillus (fumigatus, niger и т. д.), рода Mucorales (mucor,

absidia, rhizopus), *Sporothrix schenkii, Blastomyces dermatitidis, Paracoccidioides brasiliensis, Coccidioides immitis* и *Histoplasma capsulatum*. В некоторых вариантах осуществления инфекционное заболевание вызвано патогенным паразитом. В некоторых вариантах осуществления патогенный паразит выбран из группы, состоящей из *Entamoeba histolytica, Balantidium coli, Naegleriafowleri, Acanthamoeba sp., Giardia lambia, Cryptosporidium sp., Pneumocystis carinii, Plasmodium vivax, Babesia microti, Trypanosoma brucei, Trypanosoma cruzi, Leishmania donovani, Toxoplasma gondii* и *Nippostrongylus brasiliensis*.

[0682] Все ссылки, приведенные выше, а также все ссылки, приведенные в настоящем документе, включены в настоящий документ посредством ссылки во всей своей полноте.

[0683] Следующие примеры приведены в качестве иллюстрации, но не в качестве ограничения.

ПРИМЕРЫ

Пример 1 - Разработка состава для подкожной инъекции

[0684] В настоящем примере обсуждается разработка стабильного, надежного состава ниволумаба для подкожного (subcutaneous (SC)) введения и производственный процесс, пригодный для производства в промышленных масштабах. В рамках исследований состава оценивали влияние различных фармацевтически приемлемых вспомогательных веществ на стабильность ниволумаба. Были также проведены исследования для выбора обработки и компонентов упаковки, совместимых с выбранным составом. Кроме того, были проведены исследования в зависимости от времени применения для получения подтверждающих данных о введении лекарственного препарата путем п/к инъекции.

[0685] Цели данных исследований, проведенных для разработки SC инъекционной формы ниволумаба, включают: 1. идентификацию и разработку стабильного инъекционного состава для SC инъекции ниволумаба, подходящего для клинического применения и последующей коммерциализации; 2. идентификацию производственного оборудования и компонентов упаковки, совместимых с SC инъекционной формой ниволумаба; 3. разработку и оптимизацию технологии производства лекарственного продукта; 4. производство трех партий SC инъекционной формы ниволумаба для использования в долгосрочных исследованиях стабильности и клинических испытаниях фазы 3; и 5. передачу технологии производства продукции на коммерческое производство и изготовление партий PPQ.

Разработка состава

Выбор буферной системы и pH

[0686] В предыдущих исследованиях, связанных с разработкой состава для внутривенного (intravenous (IV)) введения ниволумаба, оценивали стабильность белка в зависимости от pH раствора с помощью капиллярной дифференциальной сканирующей калориметрии (differential scanning calorimetry (DSC)), которая измеряет термодинамику разворачивания белка; и далее оценивали физическую стабильность ниволумаба в буферах, подходящих для состава при pH 6,0 и 7,0. На основании результатов данных двух исследований 20 мМ цитратный буфер при pH 6,0 был выбран для IV введения ниволумаба.

[0687] Хотя цитрат оказался подходящим буфером для лекарственного средства ниволумаб, вводимого внутривенно, цитрат не будет предпочтительным буфером для препарата, вводимого подкожно, поскольку в ряде источников было указано, что цитратный буфер, как известно, вызывает покалывание и жжение при подкожном введении.

[0688] В попытке определить другие буферы с целевым pH 6,0, подходящие для использования в составе, вводимом подкожно, было проведено исследование стабильности высокой концентрации (100 мг/мл) ниволумаба в 20 мМ гистидиновом буфере при значениях pH от 5,5 до 6,5. Данные по стабильности для образцов, хранившихся при температуре 40°C, приведены в таблице 2. Хотя скорость образования высокомолекулярных веществ была относительно постоянной в диапазоне pH, после двух месяцев хранения при 40°C уровень HMWS был самым низким в образцах с pH 6,0. Также было замечено, что площадь основного пика по данным iCIEF была самой большой для образцов при pH 6,0. На основании результатов данных исследований для приготовления инъекционной формы для подкожного (SC) введения (далее SC инъекционной формы) ниволумаба был выбран 20 мМ гистидиновый буфер с целевым pH 6,0.

Таблица 2: Влияние pH раствора на стабильность при хранении SC инъекционной формы ниволумаба в течение 2 месяцев при 40°C

pH	Время (месяцы)	pH	Концентрация белка (мг/мл)	HMWS Площадь %	LMWS Площадь %	Площадь главного пика % по iCIEF	Субвидимые твердые частицы (частицы на миллилитр)	
							≥ 10-мкм	≥ 25-мкм
5,5	0	5,51	102	0,65	0,00	67,0	1	0
	1	5,49	100	1,38	0,08	48,9	1	0

	2	5,51	99	2,49	0,17	27,7	5	0
5,7	0	5,72	101	0,68	0,00	66,6	3	0
	1	5,71	99	1,32	0,07	50,3	0	0
	2	5,73	97	2,29	0,15	29,6	1	0
6,0	0	5,96	101	0,72	0,00	66,1	3	0
	1	5,97	102	1,34	0,06	49,7	1	0
	2	5,96	103	2,16	0,12	31,8	8	0
6,3	0	6,29	102	0,76	0,00	66,6	0	0
	1	6,29	100	1,44	0,05	49,0	0	0
	2	6,31	103	2,19	0,10	30,5	4	0
6,5	0	6,47	102	0,79	0,00	66,2	1	0
	1	6,49	101	1,53	0,05	48,4	1	0
	2	6,47	102	2,28	0,10	30,4	4	0

Выбор концентрации буфера состава

[0689] Было проведено исследование для оценки влияния концентрации гистидинового буфера на стабильность раствора ниволумаба. Образцы растворов готовили с концентрацией ниволумаба 100 мг/мл при pH 6,0. Концентрация гистидина была отрегулирована до 10 мМ, 20 мМ и 30 мМ. Каждый состав также содержал 250 мМ сахарозы, 0,05% w/w полисорбата 80 и 50 мкМ пентетовой кислоты. Образцы помещали в стеклянные флаконы объемом 3 мл, которые хранились в условиях ускоренного хранения при 25°C до 6 месяцев.

[0690] На протяжении всего исследования внешний вид всех образцов был от прозрачного до слегка опалесцирующего, от бесцветного до бледно-желтого. Дополнительные результаты по стабильности приведены в таблице 3 и таблице 4. При всех трех концентрациях гистидина не наблюдалось изменений в pH раствора или концентрации белка. Уровни высоко- и низкомолекулярных веществ увеличивались со временем с одинаковой приблизительной скоростью в течение 6 месяцев хранения. Уровни субвидимых частиц были низкими, без видимых тенденций.

Таблица 3: Влияние концентрации гистидина на стабильность ниволумаба при хранении в течение 6 месяцев при 25°C

Концентрация гистидина (мМ)	**Время (месяцы)**	**pH**	**Концентрация белка (мг/мл)**	**HMWS (Площадь %)**	**LMWS (Площадь %)**	**Субвидимые твердые частицы (частицы на миллилитр)**	
						≥ 10 мкм	**≥ 25 мкм**
10 мМ	0	6,14	101	0,98	0,07	8	0
	3	6,16	101	1,38	0,09	12	0
	6	6,09	100	1,42	0,08	40	0
20 мМ	0	6,10	102	0,94	0,07	10	0
	3	6,11	101	1,16	0,08	7	0
	6	6,13	102	1,31	0,10	25	0

30 мМ	0	6,12	100	0,91	0,07	7	0
	3	6,11	99	1,04	0,09	7	0
	6	6,14	101	1,30	0,08	32	2

[0691] В таблице 4 представлены данные по вариантам размеров, полученные с помощью CE-SDS (капиллярного гель-электрофореза в присутствии додецилсульфата натрия), как в восстанавливающих, так и в невосстанавливающих условиях (R&NR). За 6 месяцев хранения при ускоренном режиме 25°C процент чистоты, определенный по CE-SDS, как в восстанавливающих, так и в невосстанавливающих условиях, не изменился. Данные по вариантам заряда, полученные с помощью iCIEF, также приведены в таблице 4. Уровень кислотных веществ для всех трех составов увеличился на около 8% за 6 месяцев хранения при 25°C. Увеличение количества кислотных веществ сопровождалось приблизительно таким же уменьшением площади основного пика. Уровень основных веществ мало изменился за 6 месяцев хранения. Исходя из результатов данного исследования, для приготовления SC инъекционной формы ниволумаба была выбрана концентрация гистидинового буфера 20 мМ.

Таблица 4: Влияние концентрации гистидина на стабильность ниволумаба при хранении в течение 6 месяцев при 25°C

Концентрация гистидина (мМ)	**Время (месяцы)**	**Чистота по CE-SDS**		**Результаты iCIEF**		
		Восстанавл. (Площадь %)	**Невосстан. (Площадь %)**	**Кислотная группа (Площадь %)**	**Главный пик (Площадь %)**	**Основная группа (Площадь %)**
10 мМ	0	100,0	99,6	30,2	65,1	4,6
	3	100,0	99,8	34,9	60,3	4,8
	6	100,0	99,7	38,6	55,9	5,6
20 мМ	0	100,0	99,6	30,5	64,8	4,7
	3	100,0	99,6	34,4	60,5	5,1
	6	100,0	99,7	37,9	57,5	4,6
30 мМ	0	100,0	99,6	30,4	64,8	4,8
	3	100,0	99,7	35,2	60,2	4,6
	6	100,0	99,8	38,1	57,5	4,5

Выбор средства, регулирующего тонус

[0692] Было проведено исследование для оценки влияния сахарозы на стабильность ниволумаба в составе с высококонцентрированным белком. Были

приготовлены растворы с концентрацией ниволумаба 100 мг/мл в 20 мМ гистидиновом буфере, pH 6,0, с концентрацией сахарозы в диапазоне от 200 мМ до 400 мМ. Образцы наблюдались в течение 7 месяцев при ускоренном режиме 25°C. Внешний вид всех образцов оставался от прозрачного до слегка опалесцирующего, от бесцветного до бледно-желтого. Результаты исследования, представленные в таблице 5, свидетельствуют об отсутствии изменений в pH состава или концентрации ниволумаба. Уровень содержания субвидимых частиц во всех образцах был низким, без явных тенденций. Скорость образования высоко- и низкомолекулярных веществ была постоянной в диапазоне концентраций сахарозы, оцененных в исследовании.

Таблица 5: Влияние концентрации сахарозы на стабильность SC инъекционной формы ниволумаба при хранении в течение 7 месяцев при 25°C

Концентрация сахарозы (мМ)	Время (месяцы)	pH	Концентрация белка (мг/мл)	HMWS (Площадь %)	LMWS (Площадь %)	Субвидимые твердые частицы (частицы на миллилитр)	
						≥ 10 мкм	≥ 25 мкм
200	0	5,98	102	0,65	0,00	2	2
	3	6,00	101	0,92	0,00	10	1
	7	6,02	101	1,02	0,03	3	0
250	0	5,97	101	0,65	0,00	2	0
	3	6,01	99	0,92	0,01	0	0
	7	6,02	99	1,03	0,03	5	0
330	0	5,98	100	0,65	0,00	5	0
	3	6,04	101	0,90	0,00	1	0
	7	5,98	99	1,02	0,03	2	1
400	0	5,97	102	0,65	0,00	5	0
	3	5,99	101	0,90	0,00	0	0
	7	6,01	99	1,01	0,01	3	0

[0693] На основании результатов исследования стабильности, концентрация сахарозы 250 мМ (85,6 г/л) была выбрана в качестве средства, регулирующего тоничность SC инъекционной формы ниволумаба. Как показано на ФИГ. 1, как вязкость, так и осмоляльность состава увеличиваются с увеличением концентрации сахарозы. Но на основании результатов, представленных в таблице 5, было установлено, что увеличение концентрации сахарозы оказывает незначительное влияние на качественные характеристики состава.

Выбор концентрации поверхностно-активного вещества

[0694] Полисорбат 80, неионное поверхностно-активное вещество, был оценен для применения в составе. Четыре различные концентрации полисорбата 80, 0,01% масс./об., 0,03% масс./об., 0,05% масс./об. и 0,07% масс./об., наряду с образцом без полисорбата 80, были оценены на предмет их влияния на стабильности SC

инъекционной формы ниволумаба. В начальной части исследования были приготовлены составы, которые затем подверглись шести циклам замораживания-размораживания (от -60°C до 25°C). Составы также энергично перемешивались на шейкере с запястным механизмом в течение 60 минут при комнатной температуре и комнатном освещении. Многочисленные видимые частицы наблюдались в образцах без полисорбата 80, когда они подвергались замораживанию-размораживанию или перемешиванию. Несмотря на уменьшение количества, видимые частицы также наблюдались в образцах с 0,01% масс./об. полисорбата 80, подвергнутых замораживанию-размораживанию или перемешиванию. В образцах с концентрацией полисорбата 80 0,03% масс./об., 0,05% масс./об. или 0,07% масс./об. видимых частиц не наблюдалось. Таким образом, был сделан вывод, что для состава ниволумаба для SC инъекционной формы концентрация полисорбата 80 ниже 0,01% масс./об. недостаточна для предотвращения образования видимых частиц под воздействием замораживания-размораживания или сильного перемешивания.

[0695] Во второй части данного исследования было изучено влияние концентрации полисорбата 80 на стабильность SC инъекционной формы ниволумаба. Образцы с концентрацией полисорбата 80 0,03% масс./об., 0,05% масс./об. и 0,07% масс./об. хранились при температуре 40°C и стабильность контролировалась в течение двух месяцев. В течение всего периода исследования не наблюдалось изменений внешнего вида раствора, и, как представлено в таблице 6, не было изменений pH и концентрации белка. Скорость образования высоко- и низкомолекулярных веществ была относительно сопоставимой для трех концентраций полисорбата 80. Уровень содержания субвидимых частиц во всех образцах был низким, без каких-либо явных тенденций. Исходя из результатов данного исследования, целевая концентрация полисорбата 80 0,05% масс./об. была выбрана для приготовления SC инъекционной формы ниволумаба.

Таблица 6: Влияние концентрации полисорбата 80 на стабильность SC инъекционной формы ниволумаба при хранении в течение 2 месяцев при 40°C

Концентрация полисорбата 80 (% масс./об.)	Время (месяцы)	pH	Концентрация белка (мг/мл)	HMWS (Площадь %)	LMWS (Площадь %)	Субвидимые твердые частицы (частицы на миллилитр)	
						≥ 10 мкм	≥ 25 мкм
0,03	0	5,97	118	0,61	0,05	0	0
	1	5,99	119	2,09	0,12	5	0
	2	5,98	121	4,26	0,22	6	0
0,05	0	5,98	119	0,61	0,06	0	0
	1	6,01	120	2.14	0,13	6	0
	2	5,99	120	4,41	0,24	8	0

0,07	0	5,97	120	0,61	0,05	1	0
	1	5,99	120	2,27	0,13	6	0
	2	6,01	119	4,70	0,22	6	0

Добавление хелатора ионов металлов

[0696] EDTA и DTPA (пентетовая кислота) были оценены как потенциальные хелаторы металлов для включения в состав для SC инъекционной формы ниволумаба. Было проведено предварительное скрининговое исследование для сравнения эффективности EDTA и пентетовой кислоты при добавлении металла в образцы, содержащие ниволумаб. В данном исследовании был приготовлен раствор, содержащий ниволумаб в концентрации 10 мг/мл в 20 мМ гистидина с 260 мМ сахарозы при pH 6,0. В образцы добавляли металл в концентрации 500 ppb (частей на миллиард) железа, 15 ppb хрома, 15 ppb никеля, 30 ppb меди, 10 ppb молибдена и 10 ppb марганца. Для контроля также были подготовлены образцы без металла. Были подготовлены следующие шесть составов: 1. Состав A: без металла, без EDTA или пентетовой кислоты; 2. Состав B: без металла, 50 мкМ пентетовой кислоты; 3. Состав C: без металла, 50 мкМ EDTA; и 4. Состав D: с добавлением металла, без EDTA или пентетовой кислоты; 5. Состав E: с добавлением металла, 50 мкМ пентетовой кислоты; и 6, Формула F: с добавлением металла, 50 мкМ EDTA.

[0697] Образцы помещали в стрессовое состояние при 40°C, и уровни HMWS и LMWS отслеживались в течение 4 недель. Данные, представленные в таблице 7, показывают преимущество добавленного хелатора ионов металлов. Для состава D, где в образец добавляли металл, но не добавляли хелатор, уровень HMWS увеличился с 0,27% до 7,07% и уровень LMWS увеличился с 0,12% до 0,32% за 4 недели хранения при 40°C. EDTA в концентрации 50 мкМ (состав F) смогла ограничить увеличение уровней HMWS и LMWS до 3,75% и 0,18%, соответственно, для образцов с добавлением металла. Однако наилучшие показатели для образцов с добавленным металлом наблюдались при использовании 50 мкМ пентетовой кислоты, где уровень HMWS увеличился всего до 0,55% и уровень LMWS не изменился за 4 недели исследования. Даже составы A, B и C без добавления металла показали преимущество добавленного хелатора ионов металлов. Без добавления хелатора уровень HMWS увеличился с 0,27% до 1,94% и уровень LMWS увеличился с 0,12% до 0,17% за 4 недели хранения при 40°C. При включении в состав 50 мкМ пентетовой кислоты или 50 мкМ EDTA, увеличение уровня HMWS уменьшилось с 0,26% до 0,48% для пентетовой кислоты и с 0,26% до 0,52% для EDTA. Уровень LMWS для образцов,

содержащих хелатор ионов металлов, оставался неизменным в течение 4-недельного периода хранения. На основании результатов данного исследования пентетовая кислота была выбрана в качестве хелатора ионов металлов для SC инъекционной формы ниволумаба.

Таблица 7: Влияние EDTA по сравнению с пентетовой кислотой на стабильность ниволумаба при хранении в течение 4 недель при 40°C после добавления ионов металлов

Состав	**Время (недели)**	**HMWS площадь %**	**LMWS площадь %**
Состав A: без добавления металла, без EDTA или пентетовой кислоты	0	0,27	0,12
	2	0,50	0,14
	4	1,94	0,17
Состав B: без добавления металла, 50 мкМ пентетовой кислоты	0	0,26	0,12
	2	0,32	0,13
	4	0,48	0,12
Состав C: без добавления металла, 50 мкМ EDTA	0	0,26	0,12
	2	0,34	0,13
	4	0,52	0,12
Состав D: с добавлением металла, без EDTA или пентетовой кислоты	0	0,27	0,12
	2	4,66	0,33
	4	7,07	0,32
Состав E: с добавлением металла, 50 мкМ пентетовой кислоты	0	0,26	0,12
	2	0,34	0,13
	4	0,55	0,12
Состав F: с добавлением металла, 50 мкМ EDTA.	0	0,26	0,12
	2	1,23	0,22
	4	3,75	0,18

[0698] Для дальнейшего изучения преимуществ хелатора ионов металлов в предотвращении деградации, которая потенциально может произойти из-за присутствия следовых ионов металлов, было проведено второе, более глубокое исследование для оценки влияния пентетовой кислоты на стабильность SC инъекционной формы ниволумаба. В данном исследовании был использован состав, содержащий 120 мг/мл ниволумаба в 20 мМ гистидиновом буфере, pH 6,0, с 250 мМ сахарозы и 0,05% масс./об. полисорбата 80. В растворы добавляли концентрированный раствор металла так, чтобы общая концентрация металла в образцах с добавлением металла составляла 1,5 ppm (по 0,5 ppm железа, хрома и меди). Как и в предыдущем исследовании, для контроля также были подготовлены пробы без металла. Были приготовлены следующие пять составов: 1. Состав A: без добавления металла, без пентетовой кислоты; 2. Состав B: без добавления металла, 50 мкМ пентетовой кислоты; 3. Состав C: 1,5 ppm металла, без пентетовой кислоты; 4. Состав D: 1,5 ppm металла, 50 мкМ пентетовой кислоты; и 5. Состав E: 1,5 ppm металла, 100 мкМ пентетовой кислоты.

[0699] Образцы были разлиты в стеклянные флаконы объемом 3 мл, которые

были закупорены и хранились при стрессовом состоянии 40°C, и стабильность контролировалась в течение двух месяцев. В течение всего периода исследования не наблюдалось изменений внешнего вида раствора, и, как представлено в таблице 8, не было изменений pH или концентрации белка. Уровень содержания субвидимых частиц во всех образцах был низким, без явных тенденций. После 2 месяцев хранения при 40°C уровень HMWS и LMWS был самым высоким в составе C, растворе с обогащением металлом без добавления пентетовой кислоты. Более низкие и одинаковые уровни HMWS и LMWS наблюдались в составах D и E, содержащих 50 мкМ и 100 мкМ пентетовой кислоты, соответственно. Результаты, полученные на не обогащенных металлом составах A и B, также показали преимущество добавленной пентетовой кислоты. Без добавления хелатора (состав A) уровень HMWS увеличился с 0,61% до 4,34% и уровень LMWS увеличился с 0,05% до 0,25% за 2 месяца хранения при 40°C. Когда в состав (состав B) было включено 50 мкМ пентетовой кислоты, уровень HMWS через 2 месяца составил всего 2,97% и уровень LMWS через 2 месяца составил всего 0,20%. На основании результатов данного исследования для состава для SC инъекций ниволумаба была выбрана целевая концентрация пентетовой кислоты 50 мкМ.

Таблица 8: Влияние добавления следовых количеств металлов и пентетовой кислоты на стабильность SC инъекционной формы ниволумаба при хранении в течение 2 месяцев при 40°C

Состав	**Время (месяцы)**	**pH**	**Концентрация белка (мг/мл)**	**HMWS (Площадь %)**	**LMWS (Площадь %)**	**Субвидимые твердые частицы (частицы на миллилитр)**	
						≥ 10 мкм	**≥ 25 мкм**
Состав A:	0	5,92	118	0,61	0,05	1	0
Без металла	1	5,92	117	2,11	0,12	5	0
Без пентетовой кислоты	2	5,91	118	4,34	0,25	11	0
Состав B:	0	5,93	117	0,60	0,05	1	0
Без металла	1	5,92	117	1,67	0,10	9	0
50 мкМ пентетовой кислоты	2	5,90	117	2,97	0,20	2	0
Состав C:	0	5,93	116	0,61	0,06	1	1
1,5ppm металла	1	5,91	118	3,13	0,17	4	0
Без пентетовой кислоты	2	5,92	119	5,90	0,30	9	0
Состав D:	0	5,93	116	0,61	0,06	0	1
1,5ppm металла	1	5,90	119	1,86	0,11	9	0
50 мкМ пентетовой кислоты	2	5,91	118	3,39	0,20	7	0

Состав E: 1,5ppm металла 100 мкМ пентетовой кислоты	0 1 2	5,92 5,91 5,90	118 117 118	0,62 1,85 3,39	0,06 0,11 0,20	0 5 9	0 0 0

Выбор концентрации белка

[0700] Был проведен ряд экспериментов, чтобы помочь в выборе целевой концентрации белка для SC инъекционной формы ниволумаба. Было установлено, что состав стабилен при обработке, и ультрафильтрация позволила достичь концентрации ниволумаба до 200 мг/мл. Однако было обнаружено, что вязкость быстро увеличивается при концентрации ниволумаба более 150 мг/мл.

[0701] L-аргинин представляет собой аминокислоту, которая, как известно, снижает вязкость раствора. Чтобы оценить влияние аргинина на вязкость состава, было проведено исследование, в котором 75 мМ аргинина добавили к 140 мг/мл состава ниволумаба для SC введения (в 20 мМ гистидина, 250 мМ сахарозы, 0,05% масс./об. полисорбата 80, 50 мкМ пентетовой кислоты, pH 6,0) и затем сконцентрировали с помощью мембраны 10 кДа и центрифуги. Влияние добавленного аргинина на вязкость состава показано на ФИГ. 2. При концентрации ниволумаба более 100 мг/мл, 75 мМ аргинин вызывает снижение вязкости раствора. Например, вязкость раствора 140 мг/мл ниволумаба при 20°C без аргинина составляла 13,3 сП, тогда как с 75 мМ аргинина составляла 9,1 сП. Измерения вязкости проводились при 20°C.

[0702] Затем было проведено исследование для оценки влияния 75 мМ аргинина на стабильность SC инъекционной формы ниволумаба (ELN A0C6F-023, ELN A259D-007). Небольшие партии ниволумаба были приготовлены в 20 мМ гистидине pH 6,0, с 250 мМ сахарозой, 0,05% масс./об. полисорбатом и 50 мкМ пентетовой кислотой. Концентрация ниволумаба составляла 100 мг/мл или 140 мг/мл, растворы готовились как с 75 мМ аргинином, так и без него. Были получены типичные данные по стабильности для контролируемых показателей качества, за исключением того, что при температуре 40°C в течение 3 месяцев в составах, содержащих аргинин, наблюдались многочисленные мелкие белые видимые частицы. В составах без аргинина видимых частиц не наблюдалось. На основании данных результатов по стабильности было принято решение не включать аргинин в состав для SC инъекционной формы ниволумаба.

[0703] Целевая концентрация ниволумаба, выбранная для SC инъекционной формы ниволумаба, была 120 мг/мл. Состав, выбранный для клинических испытаний

FIH, представлял собой 20 мМ гистидиновый буфер при pH 6,0, с 250 мМ сахарозы, 0,05% масс./об. полисорбата 80 и 50 мкМ пентетовой кислоты. Лекарственное вещество предоставляется в том же составе, но в целевой концентрации 150 мг/мл с хранением при -60°C.

Данные по стабильности лабораторных партий SC инъекционной формы ниволумаба

[0704] Две партии SC инъекционной формы ниволумаба в лабораторных масштабах были приготовлены и помещены в камеру стабильности. Обе партии использовали выбранный состав FIH, 20 мМ гистидиновый буфер при pH 6,0, 250 мМ сахарозу, 0,05% масс./об. полисорбат 80 и 50 мкМ пентетовую кислоту. Чтобы установить концентрацию белка 120 мг/мл, выбранную для состава FIH, концентрация ниволумаба для одной партии составляла 100 мг/мл и для другой составляла 140 мг/мл. Составы были приготовлены, и небольшие аликвоты были асептически отфильтрованы в стеклянные флаконы объемом 3 мл типа I. Флаконы закупоривались, герметично закрывались и помещались в камеру стабильности при 5°C, 25°C и 40°C. В определенные моменты времени образцы забирали со станции стабильности и проверяли на внешний вид, pH, концентрацию белка, однородность размера способом SE-ВЭЖК (эксклюзионной ВЭЖХ), наличие субвидимых частиц способом HIAC, варианты заряда способом iCIEF и варианты молекулярного размера способом CE-SDS (R&NR).

[0705] Визуальный вид всех образцов во всех временных точках представлял собой прозрачный или слегка опалесцирующий, бесцветный или бледно-желтый раствор. Дополнительные данные по стабильности приведены в таблицах с 9 по 11. Как показано в таблице 9, как для образцов 100 мг/мл, так и для образцов 140 мг/мл, в течение всего исследования не наблюдалось изменений pH или концентрации белка. За 12 месяцев хранения при 5°C уровень HMWS увеличился на 0,56% для образцов 100 мг/мл и на 0,73% для образцов 140 мг/мл. В условиях ускоренного хранения при 25°C, после 6 месяцев хранения уровень HMWS увеличился на 0,88% для образцов 100 мг/мл и на 1,15% для образцов 140 мг/мл. В условиях стресса при 40°C уровень HMWS увеличился за 3 месяца хранения на 3,17% и 3,92% для образцов 100 мг/мл и 140 мг/мл, соответственно. Уровень LMWS незначительно изменился для образцов, хранившихся при 5°C и 25°C, но увеличился на около 0,2% для образцов, хранившихся в течение 3 месяцев при 40°C.

Таблица 9:		**Данные по стабильности для SC инъекционной формы ниволумаба, 100 мг/мл и 140 мг/мл**									
Условия хранения	**Время (месяцы)**	**pH**		**Концентрация белка (мг/мл)**		**SE-ВЭЖК HMWS (Площадь %)**		**SE-ВЭЖК Мономер (Площадь %)**		**SE-ВЭЖК LMWS (Площадь %)**	
		100 мг/мл	**140 мг/мл**	**100 мг/мл**	**140 мг/мл**	**100 мг/мл**	**140 мг/мл**	**100 мг/мл**	**140 мг/мл**	**100 мг/мл**	**140 мг/мл**
Исходные	0	6,14	6,20	100	141	0,69	0,75	99,19	99,14	0,12	0,11
5°C	3	6,20	6,21	102	139	0,89	1,04	99,00	98,85	0,12	0,11
	6	6,17	6,17	99	133	0,97	1,16	98,91	98,72	0,12	0,12
	9	6,14	6,16	101	137	1,19	1,41	98,69	98,47	0,12	0,12
	12	6,16	6,18	98	137	1,25	1,48	98,61	98,38	0,14	0,14
25°C	3	6,19	6,21	104	142	1,30	1,57	98,57	98,31	0,13	0,12
	6	6,18	6,19	101	135	1,57	1,90	98,29	97,97	0,14	0,13
40°C	1	6,18	6,22	98	141	1,29	1,60	98,59	98,29	0,12	0,11
	3	6,20	6,21	101	141	3,86	4,67	95,86	95,04	0,28	0,29

[0706] В таблице 10 представлены результаты для субвидимых частиц и вариантов заряда. Уровень субвидимых частиц для всех образцов во всех временных точках был низким, и явных тенденций не наблюдалось. Уровень кислотных веществ увеличивался со временем при всех условиях хранения. За 12 месяцев хранения при 5°C уровень кислотных веществ увеличился на 6,3% для образцов 100 мг/мл и на 5,8% для образцов 140 мг/мл. При ускоренном хранении при 25°C уровень кислотных веществ увеличился на 26,0% для образцов 100 мг/мл и на 23,8% для образцов 140 мг/мл. В условиях стресса при 40°C уровень кислотных веществ увеличился за 3 месяца хранения на 44,9% и 43,9% для образцов 100 мг/мл и 140 мг/мл, соответственно. Увеличение количества кислотных веществ сопровождалось приблизительно одинаковым уменьшением площади основного пика. Для всех образцов уровень основных соединений мало изменился в течение всего периода исследования.

Таблица 10:		**Данные по стабильности для SC инъекционной формы ниволумаба, 100 мг/мл и 140 мг/мл**									
Условия хранения	**Время (месяцы)**	**Субвидимые частицы ≥ 10 мкм (частицы/мл)**		**Субвидимые частицы ≥ 25 мкм (частицы/мл)**		**iCIEF Кислотная группа (Площадь%)**		**iCIEF Главный пик (Площадь %)**		**iCIEF Основная группа (Площадь %)**	
		100 мг/мл	**140 мг/мл**	**100 мг/мл**	**140 мг/мл**	**100 мг/мл**	**140 мг/мл**	**100 мг/мл**	**140 мг/мл**	**100 мг/мл**	**140 мг/мл**
Исходные	0	2	3	0	0	27,7	29,1	67,8	65,9	4,4	5,0

5°C	3	4	7	0	3	29,7	31,0	66,4	64,7	3,9	4,4
	6	2	2	1	0	30,3	31,0	64,2	65,5	5,6	3,5
	9	13	5	1	5	31,2	31,3	63,7	63,8	5,1	4,8
	12	5	5	0	2	34,0	34,9	61,4	60,4	4,5	4,7
25°C	3	7	4	2	1	41,4	41,6	52,9	52,4	5,8	5,9
	6	8	0	0	0	53,7	52,9	39,9	40,6	6,5	6,4
40°C	1	5	1	0	0	48,3	48,1	46,1	45,3	5,6	6,6
	3	15	4	0	0	72,6	73,0	22,1	21,5	5,3	5,5

[0707] В таблице 11 представлены данные по вариантам размеров, полученные с помощью CE-SDS, как в восстанавливающих, так и в невосстанавливающих условиях. За 12 месяцев хранения при 5°C процент чистоты по CE-SDS как в восстанавливающих, так и в невосстанавливающих условиях не изменился для образцов 100 мг/мл и 140 мг/мл. При ускоренном хранении при 25°C в течение 6 месяцев процент чистоты по CE-SDS в восстанавливающих условиях не изменился для образцов 100 мг/мл и снизился на 0,2% для образцов 140 мг/мл. В условиях стресса при 40°C процент чистоты по CE-SDS в восстанавливающих условиях снизился за 3 месяца хранения на 1,0% для образцов 100 мг/мл и на 1,4% для образцов 140 мг/мл. Для CE-SDS в восстанавливающих условиях процент чистоты снизился на 2,2% за 6 месяцев хранения при 25°C для образцов 100 мг/мл. Для образцов 140 мг/мл снижение процентной чистоты составило 1,8%. При стрессовом состоянии 40°C снижение процентной чистоты по CE-SDS в восстанавливающих условиях за 3 месяца хранения составило 2,6% и 3,1% для образцов 100 мг/мл и 140 мг/мл, соответственно.

Таблица 11: Данные по стабильности для SC инъекционной формы ниволумаба, 100 мг/мл и 140 мг/мл

Условия хранения	**Время (месяцы)**	**Чистота по CE-SDS (восстанавливающие условия) (Площадь %)**		**Чистота по CE-SDS (невосстанавливающие условия) (Площадь %)**	
		100 мг/мл	**140 мг/мл**	**100 мг/мл**	**140 мг/мл**
Исходные	0	99,5	99,8	99,3	99,2
5°C	3	100,0	100,0	99,5	99,5
	6	100,0	100,0	99,3	98,9
	9	100,0	100,0	99,3	99,2
	12	100,0	100,0	99,3	99,2
25°C	3	99,8	99,8	98,8	98,9
	6	99,6	99,6	97,1	97,4
40°C	1	99,9	99,9	98,4	98,2
	3	98,5	98,4	96,7	96,1

Описание и композиция лекарственного продукта, отобранного для клинических испытаний FIH

[0708] Для клинических испытаний FIH (first-in-human, впервые проводимых с

участием людей) был выбран препарат Nivolumab Injection, 960 мг/флакон (120 мг/мл). Он описан как стерильная, непирогенная, прозрачная или очень опалесцирующая, бесцветная или желтая жидкость. В некоторых случаях могут присутствовать немногочисленные частицы, по внешнему виду напоминающие белковые частицы. Лекарственный продукт представляет собой изотонический водный раствор для однократного применения без консервантов для подкожного (SC) введения. Препарат SC инъекционная форма ниволумаба расфасован во флаконы объемом 10 мл из бесцветного стекла типа 1, укупоренные 20-миллиметровыми бутиловыми пробками Daikyo D21-7S Flurotec® с покрытием, которые закрываются 20-миллиметровыми алюминиевыми колпачками с откидными крышками. Композиция SC инъекционной формы ниволумаба, которая включает стандарт качества и назначение каждого компонента, представлена в таблице 12. В каждый флакон включено избыточное количество SC инъекционной формы ниволумаба, чтобы обеспечить введение пациенту обозначенного количества 8,0 мл. При определении избыточного количества лекарственного продукта учитывалось следующее: 1. 0,5 мл на потери во флаконе, игле и шприце (VNS, vial, needle and syringe) во время применения продукта (в соответствии с минимальным рекомендуемым избыточным объемом заполнения USP <1151>); 2. 0,2 мл на потери в устройстве переноса в закрытой системе (если используется); 3. 0,5 мл на потери при праймировании в крыловидном инфузионном наборе (если используется); и 4. 0,3 мл для вариабельности наполняющей машины.

[0709] Исходя из количества SC инъекционной формы ниволумаба, которое потенциально может быть потеряно во время приготовления и введения дозы, в каждый флакон с лекарственным продуктом включено дополнительно 1,5 мл.

Таблица 12: Композиция препарата Nivolumab Injection, 960 мг/флакон (120 мг/мл) для клинических исследований FIH

компонент	**Стандарт качества**	**Функция**	**Количество на флакон (мг)[a]**
Ниволумаб	Спецификация BMS	Активный ингредиент	1140
L-гистидин	USP, Ph.Eur., JP	Буферный агент	14,7
L-гистидин HCl H_2O	Ph.Eur., JP	Буферный агент	20,0
Сахароза	NF, Ph.Eur., JP	Модификатор тоничности	813
Полисорбат 80	NF, Ph.Eur., JP	Поверхностно-активное вещество	4,75
Пентетовая кислота	USP	Хелатор ионов металлов	0,187
Вода для инъекций	USP, Ph.Eur., JP	Растворитель	q.s. до 9,50 мл

[a] Целевое наполнение включает переполнение на 1,5 мл для учета удержания во флаконе, в игле и шприце (VNS), изменчивости наполнительной машины и удержания компонентов при

введении препарата
USP = Фармакопея США, Ph.Eur. = Европейская фармакопея, NF = Национальный формуляр, JP = Японская фармакопея, q.s. = достаточное количество

Обеспечивающая стабильность партия нового исследуемого препарата (IND) для FIH-состава.

[0710] Лабораторная партия SC инъекционной формы ниволумаба (FIH-состав) была изготовлена и помещена в камеру стабильности. Объем партии составлял 3000 мл, и из нее был изготовлен 291 флакон после проверки. Лекарственный продукт разливали (целевое наполнение 9,5 мл) во флаконы из бесцветного стекла Schott типа 1 объемом 10 мл, которые закрывали 20-миллиметровыми пробками Daikyo D-21-7-S Flurotec из бутилкаучука с покрытием. Флаконы были укупорены 20-миллиметровыми алюминиевыми колпачками West с откидными крышками. Флаконы с лекарственным продуктом были помещены в камеру стабильности при 5°C, 25°C и 40°C. В определенные временные точки образцы извлекались из станции стабильности и тестировались. Данные по стабильности за двенадцать месяцев представлены в таблицах от 13 до 16.

[0711] Визуально все образцы во всех временных точках представляли собой прозрачный или слегка опалесцирующий, бесцветный или бледно-желтый раствор. Дополнительные данные по стабильности приведены в таблицах от 13 до 16. Как показано в таблице 13, на протяжении всего исследования не наблюдалось изменений pH или концентрации белка. За 12 месяцев хранения при температуре 5°C уровень HMWS увеличился на 0,3%. При ускоренном режиме 25°C, после 6 месяцев хранения, уровень HMWS увеличился на 0,6%. В условиях стресса при 40°C уровень HMWS увеличился за 3 месяца хранения на 3,3%. Уровень LMWS мало изменился для образцов, хранившихся при 5°C и 25°C, но увеличился на 1,1% для образцов, хранившихся в течение 3 месяцев при 40°C.

Таблица 13. Данные по стабильности для SC инъекционной формы ниволумаба, 960 мг/флакон (120мг/мл)

Условия хранения	Время (месяцы)	Внешний вид	pH раствора	Концентрация ниволумаба (мг/мл)	SE-ВЭЖК		
					HMWS (Площадь %)	Мономер (Площадь %)	LMWS (Площадь %)
Исходные	0	Соответствует[a]	5,9	121,9	0,7	99,2	0,1

5°C	1	Соответствует	6,0	125,6	0,7	99,3	<0,1
	3	Соответствует	5,9	126,5	0,8	99,1	0,1
	6	Соответствует	5,9	121,8	0,8	99,1	<0,1
	9	Соответствует	5,8	122,6	1,0	98,9	0,1
	12	Соответствует	5,8	125,6	1,0	99,0	<0,1
25°C/60% относительной влажности (RH)	1	Соответствует	5,9	125,6	0,9	99,0	<0,1
	3	Соответствует	6,0	126,3	1.1	98,8	0,1
	6	Соответствует	5,9	124,3	1,3	98,6	<0,1
40°C/75% RH	0,5	Соответствует	5,9	123,8	1,2	98,7	0,1
	1	Соответствует	6,0	126,8	1,6	98,3	0,1
	3	Соответствует	5,9	125,9	4.0	94,8	1,2

[a] Соответствует = жидкость от прозрачной до очень опалесцирующей, от бесцветной до желтой, могут присутствовать светлые (несколько) частицы (по внешнему виду похожие на белковые частицы).

[0712] В таблице 14 представлены данные по вариантам размеров, полученные с помощью CE-SDS как в восстанавливающих, так и в невосстанавливающих условиях. За 12 месяцев хранения при 5°C процент чистоты по CE-SDS как в восстанавливающих, так и в невосстанавливающих условиях не изменился. В условиях ускоренного хранения при 25°C за 6 месяцев хранения процент чистоты по CE-SDS в восстанавливающих условиях снизился на 0,2%. В условиях стресса при 40°C процент чистоты по CE-SDS в восстанавливающих условиях снизился за 3 месяца хранения на 2,9%. Для CE-SDS в невосстанавливающих условиях процент чистоты снизился на 1,2% за 6 месяцев хранения при 25°C и на 4,4% за 3 месяца хранения в стрессовом состоянии при 40°C.

Таблица 14: Данные по стабильности для SC инъекционной формы ниволумаба, 960 мг/флакон (120 мг/мл)

Условия хранения	**Время (месяцы)**	**CE-SDS (восстанавливающие условия)**		**CE-SDS (невосстанавливающие условия)**	
		Чистота (Площадь %)	**Сумма минорных пиков ≥ LOQ (Площадь %)**	**Чистота (Площадь %)**	**Сумма минорных пиков ≥ LOQ (Площадь %)**
Исходные	0	99,6	<0,5	98,4	0,8
5°C	1	99,3	0,5	98,3	1,0
	3	99,7	<0,5	99,3	0,7
	6	99,7	<0,5	98,5	1,3
	9	99,7	<0,5	98,5	0,9
	12	99,7	<0,5	98,3	1,0
25°C/60% RH	1	99,3	<0,5	98,1	1,0
	3	99,5	<0,5	98,9	0,8
	6	99,4	<0,5	97,2	2,3
40°C/75% RH	0,5	99,0	0,5	98,2	0,9
	1	98,8	<0,5	96,8	2,4
	3	96,7	1,9	94,0	4,2

[0713] Уровень кислотных веществ увеличился со временем при всех условиях

хранения. За 12 месяцев хранения при температуре 5°C уровень кислотных веществ увеличился на 0,8%. При ускоренном хранении при 25°C уровень кислотных веществ увеличился на 11,3% за 6 месяцев хранения. В стрессовых состояниях 40°C уровень кислотных веществ увеличился за 3 месяца хранения на 38,8%. Уровень основных веществ мало изменился в течение 12 месяцев хранения при температуре 5°C. При температуре 25°C уровень основных веществ увеличился на 1,6% за 6 месяцев, и после 3 месяцев хранения при 40°C уровень основных веществ увеличился на 2,6%. Увеличение кислотных и основных веществ сопровождалось приблизительно одинаковым уменьшением площади основного пика.

Таблица 15: Данные по стабильности для SC инъекционной формы ниволумаба, 960 мг/флакон (120 мг/мл)

Условия хранения	Время (месяцы)	iCIEF		
		Кислотная группа (Площадь %)	Главный пик (Площадь %)	Основная группа (Площадь %)
Исходные	0	31,4	63,8	4,8
5°C	1	31,2	63,8	5,0
	3	32,5	62,8	4,8
	6	33,3	62,2	4,5
	9	32,9	62,1	4.9
	12	32,2	62,9	4.9
25°C/60% RH	1	34,1	60,7	5,2
	3	37,6	56,7	5,8
	6	42,7	50,9	6,4
40° C/75% RH	0,5	40,4	52,5	7,0
	1	47,1	45,1	7,8
	3	70,2	22,4	7,4

[0714] В таблице 16 представлены результаты для определения активности/связывании способом ELISA (твердофазный иммуноферментный анализ), клеточного биоанализа и субвидимых частиц. При всех температурах и во всех временных точках результаты ELISA варьируются от 95% до 112%, и результаты клеточного биоанализа варьируются от 79% до 105%. Уровень содержания субвидимых частиц во всех образцах во всех временных точках был низким, и явных тенденций не наблюдалось.

Таблица 16: Данные по стабильности для SC инъекционной формы ниволумаба, 960 мг/флакон (120 мг/мл)

Условия хранения	Время (месяцы)	Антигенсвязывающая активность по ELISA %	Клеточный биоанализ %	Твердые частицы	
				Частицы/флакон ≥ 10 мкм	Частицы/флакон ≥ 25 мкм
Исходные	0	109	79	43	0
5°C	1	103	101	56	0
	3	108	95	32	0

	6	97	89	56	0
	9	105	78	112	5
	12	102	96	40	5
25°C/60% RH	1	110	105	77	3
	3	100	84	45	0
	6	96	88	45	0
40° C/75% RH	0,5	110	79	19	0
	1	112	97	53	0
	3	95	94	27	3

Производство клинических партий (FIH-состав)

[0715] Были изготовлены две клинические партии, ПАРТИЯ 1 и ПАРТИЯ 2, SC инъекционной формы ниволумаба с использованием FIH-состава. Обе партии имели конечный объем около 20 литров и были разлиты приблизительно в 1800 флаконов. Обе партии прошли все заключительные испытания и были допущены к клиническому применению. Результаты допускных испытаний данных первых двух клинических партий ниволумаба СК для инъекций представлены в таблице 17.

[0716] Краткое описание процесса производства приведено ниже. Лекарственное вещество ниволумаб, 150 мг/мл в 20 мМ гистидина, 250 мМ сахарозы, 0,05% (масс./об.) полисорбата 80 и 50 мкМ пентетовой кислоты при pH 6,0 размораживали при комнатной температуре, в защищенном от света месте, с достаточным пространством между контейнерами для обеспечения эффективности размораживания. После полного оттаивания лекарственного вещества пакеты перемешивались вручную в течение от 2 до 3 минут для обеспечения однородности. Был приготовлен буферный раствор (20 мМ гистидина, 250 мМ сахарозы, 0,05% (масс./об.) полисорбата 80 и 50 мкМ пентетовой кислоты при pH 6,0), который затем был профильтрован через фильтр с размером пор 0,22 мкм. К лекарственному веществу добавляли определенное количество буферного раствора для корректировки концентрации белка до 120 мг/мл. Образцы отбирались для определения концентрации белка, pH и тестирования на эндотоксин. Раствор лекарственного вещества 120 мг/мл фильтровали через предварительный фильтр с размером пор 0,45 мкм. Один образец был отобран для тестирования на бионагрузку. Раствор лекарственного продукта фильтровался через два фильтра с размером пор 0,22 мкм. На фильтрах были проведены испытания на целостность до и после фильтрации. Затем стерильный отфильтрованный раствор разливался в промытые, стерилизованные, депирогенизированные флаконы. Флаконы закупоривались стерильными пробками и герметично закрывались алюминиевыми колпачками. В процессе розлива через

регулярные промежутки времени проводилась проверка массы наполнителя. Запечатанные флаконы подвергались 100% визуальному контролю на наличие дефектов. Проинспектированные флаконы маркировались и упаковывались.

Таблица 17:	**Результаты допускных испытаний для первых двух клинических партий SC инъекционной формы ниволумаба, 120 мг/мл**	
Тест	**ПАРТИЯ 1**	**ПАРТИЯ 2**
Внешний вид	Соответствует	Соответствует
pH	5,9	5,8
Идентификация: пептидная карта и концентрация	Образец идентифицирован как ниволумаб	Образец идентифицирован как ниволумаб
	119,5 мг/мл	120,6 мг/мл
Концентрация белка (A_{280})	119,5 мг/мл	120,6 мг/мл
Связывание активности в ELISA	105%	100%
Клеточный биоанализ	105%	99%
SE-ВЭЖК	Мономер: 99,2 % площади HMW: 0,6 % площади LMW: 0,1 % площади	Мономер: 99,3% площади HMW: 0,6 % площади LMW: 0,1 % площади
CE-SDS (невосстанавливающие условия)	99% площади Сумма минорных пиков ≥ LOQ: 1% площади	99% площади Сумма минорных пиков ≥ LOQ: 1% площади
CE-SDS (восстанавливающие условия)	Площадь 100 % Сумма минорных пиков ≥ LOQ: < 0,5 % площади	Площадь 100 % Сумма минорных пиков ≥ LOQ: < 1 % площади
iCIEF	Основной пик: 62,2 % площади Кислотная группа: 33,1 % площади Основная группа: 4,6 % площади	Основной пик: 63,2 % площади Кислотная группа: 32,0 % площади Основная группа: 4,8% площади
Эндотоксин (LAL)	< 0,01 EU/мг белка	< 0,01 EU/мг белка
Твердые частицы	≥ 10 мкм: 32 частицы/флакон ≥ 25 мкм: 0 частиц/флакон	≥ 10 мкм: 64 частицы/флакон ≥ 25 мкм: 5 частиц/флакон
Осмоляльность	336 мосм/кг	323 мосм/кг
Стерильность	Соответствует	Соответствует
Извлекаемый объем в контейнере	9,4 мл	9,3 мл
Полисорбат 80	460 мкг/мл	0,05% масс./об.

Исследование формального времени применения/совместимости

[0717] Для обоснования подкожного клинического введения инъекционной формы ниволумаба (Nivolumab Injection), 960 мг/флакон (120 мг/мл), было проведено исследование времени применения. В первоначальных клинических исследованиях ниволумаб вводили пациентам подкожно (SC), используя один из двух способов. В

рамках способа 1 ниволумаб вводился в виде болюсной SC инъекционной формы со скоростью от 2 до 4 миллилитров в минуту в дозах 480 мг, 720 мг и 960 мг после добавления небольших аликвот нормального физиологического раствора (normal saline (NS)) и rHuPH20 (ENHANZE Drug Product (EDP)) для корректировки концентрации ниволумаба во флаконе до уровня 109,1 мг/мл и концентрации rHuPH20 до 2000 Ед/мл. При концентрации 109,1 мг/мл вводимые SC объемы 4,4 мл, 6,6 мл и 8,8 мл обеспечивали дозы ниволумаба 480 мг, 720 мг и 960 мг, соответственно. Для способа 2 доза в 960 мг (8 мл 120 мг/мл) вводилась (без добавления NS и EDP) с помощью шприцевого насоса в течение около 30 минут (~0,27 мл/мин). Для моделирования наихудших условий в данном исследовании времени применения, скорость потока раствора достигала 4 миллилитров в минуту при прохождении через иглы 27G 1/2". Кроме того, после того, как лекарственный продукт был помещен в шприц для введения, был определен период хранения до 24 часов при температуре от 2° до 8°C, причем 4 часа из 24 часов при комнатной температуре/комнатном освещении (room temperature/room light (RT/RL)).

[0718] Для способа 1 0,76 мл NS и 0,19 мл EDP были добавлены во флаконы SC инъекционной формы ниволумаба, которые затем были осторожно перемешаны и перевернуты для смешивания. Содержимое флаконов набирали в отдельные шприцы объемом 10 мл. В начальный момент времени содержимое флаконов выводилось через крыловидные инфузионные наборы (игла 27G 1/2") в контейнеры для отбора проб со скоростью 4 мл/мин. На другую группу заполненных шприцев надевали колпачки, и шприцы выдерживали при комнатной температуре в течение 4 часов, затем при температуре 2° до 8°C, в защищенном от света месте, в течение дополнительных 20 часов. По истечении 24 часов содержимое флаконов снова выводилось через крылатые инфузионные наборы в контейнеры для отбора проб со скоростью 4 мл/мин. Для способа 2 содержимое флаконов (без добавления NS или EDP) набиралось в отдельные шприцы объемом 10 мл. Пробы собирали, хранили и отбирали, как описано выше для способа 1.

[0719] Результаты исследования времени применения представлены в таблицах 18-21. В таблице 18 представлены результаты по концентрации белка и однородности размера, полученные эксклюзионной ВЭЖХ (SE-ВЭЖХ). В течение всего периода исследования не наблюдалось изменений в концентрации белка или в уровне высоко- или низкомолекулярных веществ.

Таблица 18: Результаты испытаний на концентрацию белка и однородность

размеров					
Подготовка	**Время**	**Концентрация белка (мг/мл)**	**Площадь мономера %**	**HMWS Площадь %**	**LMWS Площадь %**
Способ 1: 0,76 мл NS и 0,19 мл EDP добавляют во флакон с SC инъекционной формой ниволумаба и раствор хранится в шприце в течение 24 часов.	Начальное 24 часа	109 110	0,7 0,7	98,7 98,7	0,6 0,6
Способ 2: препарат SC инъекционной формы ниволумаба хранится в шприце в течение 24 часов.	Начальное 24 часа	120 119	0,7 0,7	98,7 98,7	0,6 0,6

[0720] В таблице 19 представлены результаты испытаний для внешнего вида раствора, pH, антигенсвязывающей активности и субвидимых твердых частиц. Как pH раствора, так и и антигенсвязывающая активность незначительно изменялись в течение всего периода исследования. Уровень субвидимых частиц в образцах был низким, и не наблюдалось никаких явных тенденций.

Таблица 19: Результаты испытаний на внешний вид, pH, антигенсвязывающую активность в ELISA и субвидимые твердые частицы

Подготовка	**Время**	**Внешний вид**	**pH**	**Антигенсвязывающая активность ELISA (%)**	**Субвидимые твердые частицы, частиц на миллилитр**	
					≥ 10-мкм	**≥ 25-мкм**
					≥ 10 мкм	**≥ 25 мкм**
Способ 1: 0,76 мл NS и 0,19 мл EDP добавляют во флакон с SC инъекционной формой ниволумаба и раствор хранится в шприце в течение 24 часов.	Начальное 24 часа	Соответствует(а) Соответствует	5,7 5,8	103 110	63 15	1 0
Способ 2: препарат SC инъекционной формы ниволумаба хранится в шприце в течение 24 часов.	Начальное 24 часа	Соответствует Соответствует	5,7 5,8	106 109	16 47	0 0

[a] Соответствует указывает на слегка желтый, очень опалесцирующий раствор, по существу свободный от видимых частиц.

[0721] В таблице 20 представлены данные по процентной чистоте по CE-SDS и сумме всех минорных пиков (≥ 0,3%). Результаты показывают, что для всех образцов уровень вариантов размеров оставался неизменным в течение всего периода исследования.

Таблица 20: Результаты тестирования вариантов размеров

Подготовка	Время	CE-SDS-NR (%)		CE-SDS-R (%)	
		Чистота	Сумма всех минорных пиков (≥0,3%)	Чистота	Сумма всех минорных пиков (≥0,3%)
Способ 1: 0,76 мл NS и 0,19 мл EDP добавляют во флакон с SC инъекционной формой ниволумаба и раствор хранится в шприце в течение 24 часов.	Начальное	98,1	1,2	98,9	0,8
	24 часа	98,0	1,5	98,9	0,9
Способ 2: препарат SC инъекционной формы ниволумаба хранится в шприце 24 часа.	Начальное	98,0	1,2	98,8	0,9
	24 часа	98,1	1,2	98,9	0,9

[0722] В таблице 21 представлены данные по активности фермента и вариантам заряда, полученные с помощью iCIEF (капиллярное изоэлектрическое фокусирование). Результаты показывают, что ферментативная активность была относительно неизменной в течение всего периода исследования. Уровень кислотных веществ, основного пика и основных соединений был неизменным в течение 24-часового периода исследования.

Таблица 21: Результаты тестирования активности фермента rHuPH20 и вариантов заряда

Подготовка	Время		Варианты зарядов по iCIEF		
		Ферментативная активность (единицы/мл)	Кислотные вещества (%)	Главный пик (%)	Основные вещества (%)
Способ 1: 0,76 мл НФС и 0,19 мл EDP добавляют во флакон с ниволумабом для SC инъекционной формы и раствор хранится в шприце 24 часа.	Начальное	2,164	35,0	60,3	4,7
	24 часа	2070	34,9	60,3	4,8
Способ 2: ниволумаб для SC инъекции хранится в шприце 24 часа	Начальное	Не испытано	34,5	60,5	4,9
	24 часа	Не испытано	34,5	60,6	4,9

[0723] На основании результатов исследования времени использования были сделаны следующие выводы:

1. SC инъекционная форма ниволумаба была стабильна при разведении с 0,76 мл 0,9% инъекционного раствора натрия хлорида (NS) и 0,19 мл ENHANZE Drug Product (EDP) до концентрации белка 109 мг/мл и хранении в пластиковом шприце до 24 часов при от

2° до 8°C, при этом 4 часа из 24 часов при комнатной температуре и комнатном освещении; 2. SC инъекционная форма ниволумаба, 120 мг/мл, была стабильна при хранении в пластиковом шприце до 24 часов при от 2° до 8°C, при этом 4 часа из 24 часов при комнатной температуре и комнатном освещении; и 3. SC инъекционная форма ниволумаба, разбавленная NS и EDP до концентрации белка 109 мг/мл, и SC инъекционная форма ниволумаба, 120 мг/мл, была совместима с компонентами для введения из поливинилхлоридного (ПВХ) мешка и была способна проходить через иглы шприца со скоростью потока до 4 миллилитров в минуту.

Разработка коммерческих составов

[0724] В первоначальных клинических испытаниях, описанных выше, фермент rHuPH20 добавляли во флакон с SC инъекционной формой ниволумаба непосредственно перед подкожным введением дозы пациенту. В настоящем исследовании оценивали добавление rHuPH20 в состав, с тем чтобы дозу можно было приготовить из одного флакона для коммерческого состава SC инъекционной формы ниволумаба.

[0725] В начальных клинических испытаниях лекарственный продукт ENHANZE® Drug Product (EDP, Halozyme Therapeutics) добавляли к ниволумабу и смешивали перед набором в шприц. EDP представляет собой стерильный, апирогенный, для однократного применения, не содержащий консервантов, изотонический водный раствор. В EDP содержится 1 мг/мл rHuPH20 в составе, содержащем 10 мМ гистидина, pH 6,5, 130 мМ хлорида натрия, 10 мМ метионина и 0,02% масс./масс. полисорбата 80. EDP упакован во флаконы объемом 2 мл из бесцветного стекла типа I, укупоренные пробками из хлорбутиловой резины и запечатанные алюминиевыми колпачками.

[0726] Для совместно приготовленного лекарственного продукта вместо EDP в составе использовали лекарственное вещество rHuPH20. Данное лекарственное вещество обеспечивало более высокую концентрацию rHuPH20 10 мг/мл и было приготовлено с 10 мМ гистидина и 130 мМ хлорида натрия, pH 6,5. Лекарственное вещество rHuPH20 поставлялось в виде замороженного раствора во флаконе, который перед применением оттаивали и осторожно перемешивали. Как и в клинических исследованиях FIH, концентрация фермента в коммерческом лекарственном препарате оставалась на уровне 2000 Ед/мл.

Исходное технико-экономическое обоснование

[0727] Исходное технико-экономическое обоснование было выполнено для

оценки стабильности 100 мг/мл ниволумаба в присутствии 2000 Ед/мл rHuPH20 при 5°C, 25°C и 40°C при упаковке в стеклянные флаконы. Составы были приготовлены с 2000 Ед/мл rHuPH20 и без него, разлиты в стеклянные флаконы объемом 3 мл, закупорены, запечатаны и помещены в камеру стабильности. Образцы были проверены в начальной временной точке и повторно через 1 неделю, 2 недели и 4 недели на внешний вид раствора, pH, концентрацию белка, однородность размера способом SE-ВЭЖК и на наличие субвидимых твердых частиц способом HIAC. Кроме того, варианты заряда определялись способом iCIEF, распределение молекулярной массы определялось способом CE-SDS (R&NR) и ферментативная активность определялось турбидиметрическим способом в планшетах.

[0728] Результаты данного исследования, представленные в таблицах от 22 до 26, показали, что присутствие 2000 Ед/мл rHuPH20 в составе не повлияло на качественные характеристики ниволумаба. В течение 4 недель хранения при 5°C, 25°C и 40°C не было обнаружено различий во внешнем виде раствора, pH, концентрации белка или уровне субвидимых частиц при сравнении результатов для состава, содержащего фермент, с результатами для контроля без фермента. Также не наблюдалось различий в результатах по гомогенности размера по SE-ВЭЖК, вариантам заряда по iCIEF или вариантам молекулярной массы по CE-SDS (R&NR). Сопоставимые результаты активности фермента наблюдались при 5°C и 25°C, но из-за относительно низкой Tm фермента наблюдалось быстрое снижение активности при хранении в условиях 40°C.

Таблица 22: Результаты тестирования внешнего вида раствора, концентрации белка и pH для образцов, хранившихся при 5°C, 25°C и 40°C в течение четырех недель

Условия хранения	Время (недели)	Внешний вид раствора		Концентрация белка (мг/мл)		pH раствора	
		С rHuPH20	Без rHuPH20	С rHuPH20	Без rHuPH20	С rHuPH20	Без rHuPH20
Исходные	0	Соответствует[a]	Соответствует	101	102	6,15	6,15
5°C	1	Соответствует	Соответствует	101	102	6,15	6,18
	2	Соответствует	Соответствует	101	101	6,15	6,16
	4	Соответствует	Соответствует	101	101	6,17	6,18
		Соответствует					
		Соответствует					
25°C	1	Соответствует	Соответствует	102	101	6,17	6,16
	2	Соответствует	Соответствует	101	100	6,17	6,14
	4	Соответствует	Соответствует	99	102	6,17	6,17
		Соответствует					
		Соответствует					

40°C	1	Соответствует	Соответствует	101	102	6,16	6,15
	2	Соответствует	Соответствует	102	102	6,16	6,16
	4	Соответствует	Соответствует	101	101	6,18	6,18
		Соответствует					

[a] Прозрачный до слегка опалесцирующего, бесцветный до бледно-желтого раствор

Таблица 23: Результаты тестирования на высокомолекулярные вещества, низкомолекулярные вещества и ферментативную активность для образцов, хранившихся при 5°C, 25°C и 40°C в течение четырех недель

Условия хранения	Время (недели)	SE-ВЭЖК HMWS (Площадь %)		SE-ВЭЖК LMWS (Площадь %)		Ферментативная активность (Единицы/мл)	
		С rHuPH20	Без rHuPH20	С rHuPH20	Без rHuPH20	С rHuPH20	Без rHuPH20
Исходные	0	0,54	0,56	0,05	0,05	2,209	N/A [a]
5°C	1	0,59	0,58	0,06	0,07	2,212	N/A
	2	0,61	0,60	0,07	0,07	2,288	N/A
	4	0,64	0,63	0,08	0,07	2,263	
25°C	1	0,70	0,70	0,07	0,07	2,219	N/A
	2	0,78	0,77	0,07	0,07	2,236	N/A
	4	0,87	0,86	0,07	0,08	2,202	N/A
40°C	1	0,98	0,96	0,08	0,07	497	N/A
	2	1,18	1,16	0,08	0,09	ND [b]	N/A
	4	1,52	1,51	0,09	0,09	ND	N/A

[a] Неприменимо, [b] Не обнаружено

Таблица 24: Результаты тестирования вариантов заряда с помощью iCIEF для образцов, хранившихся при 5°C, 25°C и 40°C в течение четырех недель

Условия хранения	Время (недели)	Кислотная группа (Площадь %)		Главный пик (Площадь %)		Основная группа (Площадь %)	
		С rHuPH20	Без rHuPH20	С rHuPH20	Без rHuPH20	С rHuPH20	Без rHuPH20
Исходные	0	31,4	31,5	64,3	64,8	4,3	3,7
5°C	1	31,3	31,6	64,8	65,3	3,9	3,1
	2	32,2	31,9	64,0	63,8	3,8	4,2
	4	32,2	32,3	63,6	63,6	4,3	4,1
25°C	1	31,5	31,1	64,8	65,2	3,7	3,7
	2	33,0	33,1	62,6	62,3	4,4	4,6
	4	33,8	33,6	61,5	61,8	4,7	4,7
40°C	1	34,7	33,9	60,6	61,2	4,7	5,0
	2	39,4	39,5	54,4	54,4	6,3	6,1
	4	47,0	47,4	45,8	45,7	7,2	6,9

Таблица 25: Результаты тестирования вариантов размера по CE-SDS (в восстанавливающих и в невосстанавливающих условиях)

образцов, хранившихся при 5°C, 25°C и 40°C в течение четырех недель					
		Процент чистоты, CE-SDS (восст.) (Площадь %)		Процент чистоты, CE-SDS (невосст.) (Площадь %)	
Условия хранения	Время (недели)	С rHuPH20	Без rHuPH20	С rHuPH20	Без rHuPH20
Исходные	0	100,0	100,0	98,4	98,5
5°C	1	100,0	100,0	98,4	98,5
	2	100,0	100,0	98,7	98,7
	4	100,0	100,0	99,3	99,3
25°C	1	100,0	100,0	98,4	98,4
	2	100,0	100,0	98,8	98,8
	4	100,0	100,0	99,3	99,4
40°C	1	100,0	100,0	98,4	98,4
	2	99,8	99,8	98,3	98,2
	4	99,8	99,8	98,9	98,9

Таблица 26: Результаты тестирования на наличие субвидимых твердых частиц способом HIAC для образцов, хранившихся при 5°C, 25°C и 40°C в течение четырех недель

		Частицы на мл, ≥ 10 мкм		Частицы на мл, ≥ 25 мкм	
Условия хранения	Время (недели)	С rHuPH20	Без rHuPH20	С rHuPH20	Без rHuPH20
Исходные	0	3	3	0	0
5°C	1	4	3	3	1
	2	3	0	0	0
	4	1	4	0	0
25°C	1	0	4	0	2
	2	3	1	0	0
	4	5	0	0	0
40°C	1	6	9	0	0
	2	5	1	1	0
	4	1	5	0	0

Разработка коммерческого состава - добавление rHuPH20

[0729] Основной задачей при разработке коммерческого состава для SC инъекционной формы ниволумаба было добавление rHuPH20 к клиническому FIH-составу. Как и в случае дозирования FIH, целевая ферментативная активность в коммерческом лекарственном продукте составляла 2000 единиц на миллилитр. Лекарственное вещество rHuPH20 имеет целевую концентрацию белка 10 мг/мл, целевую ферментативная активность 110000 единиц на миллиграмм и плотность 1,010 г/мл при 20°C. Таким образом, при активности фермента 2000 единиц/мл теоретическое количество лекарственного вещества rHuPH20, необходимое на литр готового лекарственного продукта, составляет: 2000 kЕД/л DP x 1 мг rHuPH20/110 kЕД x 1 мл/10 мг x 1,010 г/мл = 1,84 г/л.

[0730] 1,84 г лекарственного вещества rHuPH20 на литр лекарственного

продукта приводит к концентрации фермента в лекарственном продукте 0,0182 мг/мл, из: 1,84 г/л x 1 мл/1,010 г x 10 мг/мл x 1 л/1,000 мл = 0,0182 мг rHuPH20/мл лекарственного продукта.

[0731] Фактическое количество лекарственного вещества rHuPH20, добавляемого при изготовлении лекарственного продукта, определяется на основании концентрации белка и ферментативной активности лекарственного вещества rHuPH20, что может составлять от 8,5 до 12,5 мг/мл и от 80 до 140 kЕД/mg, соответственно.

Добавление метионина в качестве «жертвуемого» антиоксиданта

[0732] Для предотвращения окисления rHuPH20 было проведено исследование, в котором метионин был добавлен в состав в качестве «жертвуемого» антиоксиданта. Чтобы подвергнуть состав стрессу, пероксид добавляли в концентрации 1 мМ к составам, содержащим метионин в концентрациях 0 мМ, 5 мМ и 10 мМ. Уровень 1 мМ пероксида был выбран на основании литературных данных, согласно которым в растворе, содержащем 0,05% масс./об. полисорбата 80, при хранении при 40°C в течение 5 недель образуется приблизительно 0,15 мМ пероксида.

[0733] В данном эксперименте были приготовлены растворы с концентрацией ниволумаба 120 мг/мл в 20 мМ гистидиновом буфере, pH 6,0, с 250 мМ сахарозы, 0,05% масс./об. полисорбата 80, 50 мкМ пентетовой кислоты и 2000 Ед/мл rHuPH20. Концентрацию пероксида и метионина в каждом растворе регулировали следующим образом: 1. Состав A: без пероксида, без метионина; 2. Состав B: без пероксида, 10 мМ метионина; 3. Состав C: 1 мМ пероксида, без метионина; 4. Состав D: 1 мМ пероксида, 5 мМ метионина; и 5. Состав E: 1 мМ пероксида, 10 мМ метионина.

[0734] Образцы помещали в камеру стабильности при ускоренном режиме 25°C и наблюдали за ними в течение 6 месяцев. Внешний вид всех образцов оставался прозрачным до слегка опалесцирующего, бесцветным до бледно-желтого. Дополнительные результаты по стабильности приведены в таблице 27. Данные показывают, что по существу не наблюдалось различий в pH составов, концентрации ниволумаба или уровне высокомолекулярных и низкомолекулярных веществ. Кроме того, уровень содержания субвидимых частиц во всех образцах был низким, без явных тенденций. Единственное наблюдаемое различие заключалось в том, что ферментативная активность в составе C, который содержал пероксид, но не содержал метионин, была значительно ниже, чем в других 4 составах. Даже при содержании 1 мМ пероксида в составе ферментативная активность полностью сохранялась для составов D и E. На основании результатов исследования стабильности для

коммерческого лекарственного продукта была выбрана концентрация метионина 5 мМ.

Таблица 27:	**Влияние 1 мМ пероксида на стабильность SC инъекционной формы ниволумаба при хранении в течение 6 месяцев при 25°C для образцов с добавлением метионина и без него**							
Состав	**Время (месяцы)**	**pH**	**Концентрация белка (мг/мл)**	**HMWS (Площадь %)**	**LMWS (Площадь %)**	**Ферментативная активность (Ед/мл)**	**Субвидимые твердые частицы (частицы на миллилитр)**	
							≥ 10 мкм	**≥ 25 мкм**
Состав A	0	5,94	117	0,63	0,06	2,266	1	0
(нет пероксида,	1	5,96	119	0,93	0,08	2,130	9	0
нет метионина)	3	5,99	116	1,12	0,08	2,031	11	1
	6	5,94	118	1,21	0,12	2,015	14	0
Состав B	0	5,93	118	0,62	0,06	2,292	0	0
(нет пероксида,	1	5,95	118	0,90	0,07	2,262	3	0
10 мМ метионина)	3	5,97	119	1,09	0,08	2,055	9	0
	6	5,94	119	1,18	0,13	2,023	10	0
Состав C	0	5,93	119	0,62	0,07	2,248	0	0
(1 мМ пероксида,	1	5,94	117	0,89	0,08	2,038	6	0
нет метионина)	3	5,96	118	1,08	0,09	1,856	13	0
	6	5,92	116	1,19	0,13	1,792	11	0
Состав D	0	5,92	117	0,62	0,06	2,261	0	0
(1 мМ пероксида,	1	5,94	119	0,92	0,09	2,239	5	0
5 мМ метионина)	3	5,99	120	1,10	0,08	2,081	24	0
	6	5,91	116	1,18	0,12	2,044	8	0
Состав E	0	5,93	118	0,62	0,06	2,285	0	0
(1 мМ пероксида,	1	5,94	119	0,90	0,08	2,211	10	0
10 мМ метионина)	3	5,97	117	1,08	0,08	2,036	9	0
	6	5,95	121	1,17	0,13	2,047	8	0

Стабильность SC инъекционной формы ниволумаба при добавлении в состав 1,5 ppm металла — оценка защитного действия пентетовой кислоты и метионина

[0735] Как обсуждалось ранее, 50 мкМ пентетовой кислоты были выбраны в качестве компонента состава для предотвращения катализируемой металлами деградации ниволумаба, и 5 мМ метионина были выбраны в качестве «жертвуемого» антиоксиданта для предотвращения индуцированного пероксидом окисления rHuPH20. Было проведено исследование для оценки влияния на стабильность SC инъекционной формы ниволумаба, когда оба данные вспомогательные вещества были включены в состав. В данном эксперименте готовили растворы с концентрацией ниволумаба 120 мг/мл в 20 мМ гистидиновом буфере, pH 6,0, с 250 мМ сахарозы и 0,05% масс./об. полисорбата 80. Концентрации пентетовой кислоты и метионина в каждом составе регулировали следующим образом: 1. Состав A: без пентетовой кислоты, без метионина; 2. Состав B: 50 мкМ пентетовой кислоты, без метионина; 3.

Состав C: без пентетовой кислоты, 5 мМ метионина; и 4. Состав D: 50 мкМ пентетовой кислоты, 5 мМ метионина.

[0736] В каждый состав добавляли концентрированный раствор металла таким образом, чтобы конечная концентрация металла в композиции составляла 1,5 ppm (частей на миллион) (по 0,5 ppm железа, хрома и меди). Образцы каждой композиции разливали во флаконы, помещали в камеру стабильности в стрессовых состояниях при 40°C и наблюдали до 2 месяцев. Внешний вид всех образцов оставался прозрачным или слегка опалесцирующим, от бесцветного до бледно-желтого. Дополнительные результаты по стабильности, представленные в таблице 28, показывают отсутствие различий в pH состава, концентрации ниволумаба или уровне субвидимых частиц в нем. После 2 месяцев хранения при 40°C уровень высокомолекулярных веществ был самым высоким в составе A, который не содержал ни пентетовой кислоты, ни метионина, и был самым низким в составе D, который содержал оба данные вспомогательные вещества. Сравнение уровня HMWS в составе B и C показывает, что 50 мкМ пентетовой кислоты лучше защищают от образования HMWS, чем 5 мМ метионина. Таким образом, результаты данного исследования подтверждают включение как 50 мкМ пентетовой кислоты, так и 5 мМ метионина в коммерческий состав для SC инъекционной формы ниволумаба.

Таблица 28: Влияние 1,5 ppm металла на стабильность SC инъекционной формы ниволумаба при хранении в течение 2 месяцев при 40°C для образцов с 50 мкМ пентетовой кислоты или 5 мМ метионина и без них

Состав	Время (месяцы)	pH	Концентрация белка (мг/мл)	HMWS (Площадь %)	LMWS (Площадь %)	Субвидимые твердые частицы (частицы на миллилитр)	
						≥ 10 мкм	≥ 25 мкм
Состав A (металл 1,5 ppm, нет пентетовой кислоты, нет метионина)	0	5,94	117	0,68	0,08	2	1
	1	5,97	117	3,55	0,17	10	0
	2	5,93	118	6,01	0,28	9	2
Состав Б (металл 1,5 ppm, 50 мкМ пентетовой кислоты, нет метионина)	0	5,97	116	0,68	0,07	5	0
	1	5,93	118	2,03	0,13	6	0
	2	5,95	116	3,37	0,18	10	0
Состав C (металл 1,5 ppm, нет пентетовой кислоты,	0	5,95	119	0,68	0,08	2	0
	1	5,93	119	2,93	0,15	9	0
	2	5,96	118	5,18	0,25	10	1

5 мМ метионина)							
Состав D	0	5,95	119	0,68	0,07	4	0
(металл 1,5 ppm,	1	5,95	116	1,83	0,12	8	0
50 мкМ пентетовой кислоты, 5 мМ метионина)	2	5,92	119	2,87	0,18	5	0

Обеспечивающая стабильность партия нового исследуемого препарата (IND) для FIH-состава

[0737] Лабораторная партия SC инъекционной формы ниволумаба, 120 мг/мл (коммерческий состав) была изготовлена и помещена в камеру стабильности. Состав: ниволумаб 120 мг/мл в 20 мМ гистидиновом буфере pH 6,0, с 250 мМ сахарозой, 0,05% масс./об. полисорбатом 80, 50 мкМ пентетовой кислоты, 5 мМ метионина и 2000 Ед/мл rHuPH20. Размер партии составлял 3000 мл, и после проверки было получено 368 флаконов (800 мл из данной партии были использованы для других разработок). Лекарственный продукт был разлит (целевое наполнение 5,67 мл, 600 мг/флакон) во флаконы из бесцветного стекла Schott 10R Type I, которые были закрыты 20-миллиметровыми пробками из бутилкаучука с покрытием Daikyo D-21-7-S Flurotec. Флаконы запечатывали 20-миллиметровыми алюминиевыми колпачками West с откидными крышками. Флаконы с лекарственным продуктом помещали в камеру стабильности при 5°C, 25°C и 40°C. В определенные временные точки образцы извлекались из станции стабильности и тестировались. Двенадцатимесячные данные по стабильности IND представлены в таблицах от 29 до 32.

[0738] Внешний вид всех образцов во всех временных точках соответствовал спецификации (прозрачная или очень опалесцирующая, бесцветная или желтая жидкость, могут присутствовать светлые (несколько) частицы (по внешнему виду соответствующие белковым частицам). Дополнительные данные по стабильности представлены в таблицах от 29 до 32. Как показано в таблице 29, на протяжении всего исследования не наблюдалось изменений pH или концентрации белка. За 12 месяцев хранения при 5°C уровень HMWS увеличился на 1,X%. В условиях ускоренного хранения при 25°C, после 6 месяцев хранения уровень HMWS увеличился на 0,6%. В условиях стресса при 40°C уровень HMWS увеличился за 3 месяца хранения на 3,3%. Уровень LMWS мало изменился для образцов, хранившихся при 5°C и 25°C, но увеличился на 1,1% для образцов, хранившихся в течение 3 месяцев при 40°C.

Таблица 29:	**Данные по стабильности для SC инъекционной формы ниволумаба, 600 мг/флакон (120мг/мл)**

Условия хранения	Время (месяцы)	Внешний вид	pH раствора	Концентрация ниволумаба (мг/мл)	SE-ВЭЖК		
					HMWS (Площадь %)	Мономер (Площадь %)	LMWS (Площадь %)
Исходные	0	Соответствует[a] -	5,8	123,3	0,6	99,3	0,1
5°C	1	Соответствует	5,8	124,5	0,9	99,0	0,1
	3	Соответствует	5,9	128,2	0,8	99,1	<0,1
	6	Соответствует	5,8	130,9	0,8	99,0	0,2
	9	Соответствует	5,8	125,7	0,8		
	12	Соответствует	5,9	121,6			
25°C/60%RH	1	Соответствует	5,8	127,2	1,0	98,9	0,1
	3	Соответствует	5,9	127,5	1,1	98,7	0,1
	6	Соответствует	5,8	129,9	1,3	98,5	0,2
40°C/75%RH	0,5	Соответствует	5,9	123,0	1,0	98,9	0,1
	1	Соответствует	5,8	124,7	1,6	98,3	0,1
	3	Соответствует	5,9	126,1	3,1	95,9	1,0

[a] Соответствует = жидкость от прозрачной до очень опалесцирующей, от бесцветной до желтой, могут присутствовать светлые (несколько) частицы (по внешнему виду похожие на белковые частицы).

[0739] В таблице 30 представлены данные по вариантам размера по анализу CE-SDS как в восстанавливающих, так и в невосстанавливающих условиях. За 12 месяцев хранения при 5°C процент чистоты по CE-SDS как в восстанавливающих, так и в невосстанавливающих условиях не изменился. В условиях ускоренного хранения при 25°C за 6 месяцев хранения процент чистоты по CE-SDS в восстанавливающих условиях снизился на 0,2%. В условиях стресса при 40°C процент чистоты по CE-SDS в восстанавливающих условиях снизился за 3 месяца хранения на 2,9%. Для CE-SDS в восстанавливающих условиях процент чистоты снизился на 1,2% за 6 месяцев хранения при 25°C и на 4,4% при 40°C.

Таблица 30: Данные по стабильности для SC инъекционной формы ниволумаба, 600 мг/флакон (120 мг/мл)

Условия хранения	Время (месяцы)	CE-SDS (в восстанавливающих условиях)		CE-SDS (в невосстанавливающих условиях)	
		Чистота (Площадь %)	Сумма минорных пиков ≥ LOQ (Площадь %)	Чистота (Площадь %)	Сумма минорных пиков ≥ LOQ (Площадь %)
Исходные	0	100,0	<1	99,0	1,0
5°C	1	99,6	<0,5	98,7	0,9
	3	99,7	<0,5	98,6	0,9
	6	99,7	<0,5	98,4	0,9
	9				
	12				
25°C/60%RH	1	99,6	<0,5	99,3	0,7
	3	99,4	<0,5	97,9	1,5
	6	99,4	<0,5	97,9	1,5
40°C/75%RH	0,5	99,2	<0,5	98,3	0,5
	1	99,2	<0,5	97,0	2,2

	3	97,1	2,0	94,1	5,0

[0740] Уровень кислотных веществ увеличивался со временем при всех условиях хранения. За 12 месяцев хранения при температуре 5°C уровень кислотных веществ увеличился на 1,5%. При ускоренном хранении при 25°C уровень кислотных веществ увеличился на 11,3% за 6 месяцев хранения. В стрессовых состояниях при 40°C уровень кислых соединений увеличился за 3 месяца хранения на 38,8%. Уровень основных соединений мало изменился в течение 12 месяцев хранения при 5°C. При 25°C уровень основных соединений увеличился на 1,6% за 6 месяцев, и после 3 месяцев хранения при 40°C уровень основных соединений увеличился на 2,6%. Увеличение кислотных и основных соединений сопровождалось около одинаковым уменьшением площади основного пика.

Таблица 31:		**Данные по стабильности для SC инъекционной формы ниволумаба, 600 мг/флакон (120 мг/мл)**				
		iCIEF				
Условия хранения	**Время (месяцы)**	**Кислотная группа (Площадь %)**	**Главный пик (Площадь %)**	**Основная группа (Площадь %)**	**Полисорбат 80 (% масс./об.)**	**Ферментативная активность (Единицы/мл)**
Исходные	0	31,9	63,5	4,6	0,04	2,110
5°C	1	33,5	61,7	4,8	-	2129
	3	33,2	61,8	4,9	-	2079
	6	35,6	60,0	4,4	-	1910
	9					
	12					
25°C/60%RH	1	35,2	59,2	5.6	-	2087
	3	38,5	55,4	6,1	-	2105
	6	47,6	47,0	5,5	0,04	1870
40°C/75%RH	0,5	37,2	55,6	7.3	-	900
	1	46,8	45,4	7,8	-	487
	3	66,7	25,5	7,8	0,04	NR

[0741] В таблице 32 представлены результаты для ELISA в отношении антигенсвязывающей активности, клеточного биоанализа и субвидимых частиц. При всех температурах и временных точках результаты ELISA по антигенсвязывающей активности варьируются от 95% до 112%, и результаты клеточного биоанализа варьируются от 79% до 105%. Уровень содержания субвидимых частиц во всех образцах во всех временных точках был низким, и явных тенденций не наблюдалось.

Таблица 32:		**Данные по стабильности для SC инъекционной формы ниволумаба, 600 мг/флакон (120мг/мл)**		
		Антигенсвязы		**Твердые частицы**

Условия хранения	Время (месяцы)	вающая активность ELISA %	Клеточный биоанализ %	Частицы/флакон ≥ 10 мкм	Частицы/флакон ≥ 25 мкм
Исходные	0	110	93	53	0
5°C	1	103	94	15	0
	3	102	88	33	0
	6	97	87	18	2
	9	102	91		
	12	95	93		
25°C/60%RH	1	95	86	35	2
	3	92	77	48	0
	6	99	77	25	0
40°C/75%RH	0,5	100	82	80	0
	1	100	88	27	0
	3	97	89	32	0

Устойчивость состава

[0742] Было проведено исследование по изучению устойчивости состава, выбранного для коммерческого лекарственного продукта. Дизайн исследования предусматривал приготовление 13 различных составов. Девять составов были приготовлены для скрининга основных эффектов, два состава были приготовлены в целевом режиме, и два осевых прогона были приготовлены для определения влияния концентрации белка. Для одного из целевых составов были подготовлены дополнительные флаконы, которые хранились замороженными при -60°C. Данные замороженные образцы оттаивали и тестировали в каждой временной точке для оценки аналитического (между временными точками) различия. В приготовленных составах варьировались пять факторов, включая концентрацию белка (от 105 мг/мл до 135 мг/мл), pH (от 5,5 до 6,5), концентрацию полисорбата 80 (от 0,025% масс./об. до 0,075% масс./об.), концентрацию пентетовой кислоты (от 25 мкМ до 75 мкМ) и концентрацию метионина (от 2,5 мМ до 7,5 мМ). Составы, которые были приготовлены для исследования устойчивости, приведены в таблице 33.

Таблица 33: Составы, приготовленные для исследования устойчивости

Номер состава	Описание состава	Концентрация белка (мг/мл)	pH	Конц. PS80 (% масс./об.)	Конц. пентетовой кислоты (мкМ)	Конц. метионина (мМ)
1	Скрининг основных эффектов	135	6,5	0,075	75	7,5
2	Скрининг основных эффектов	105	6,5	0,025	25	7,5
3	Осевой для конц. белка	105	6,0	0,050	50	5,0
4	Центральная точка	120	6,0	0,050	50	5,0
5	Скрининг основных эффектов	135	5,5	0,025	75	2,5
6	Центральная точка	120	6,0	0,050	50	5,0

7	Скрининг основных эффектов	135	6,5	0,025	25	2,5
8	Скрининг основных эффектов	135	5,5	0,075	25	7,5
9	Скрининг основных эффектов	105	5,5	0,075	25	2,5
10	Скрининг основных эффектов	105	5,5	0,025	25	2,5
11	Скрининг основных эффектов	105	5,5	0,025	75	7,5
12	Скрининг основных эффектов	105	6,5	0,075	75	2,5
13	Осевой для конц. белка	135	6,0	0,050	50	5,0
14	Центральная точка (хранится при -60°C)	120	6,0	0,050	50	5,0

[0743] Составы готовили, сначала размораживая приблизительно один литр очищенного лекарственного вещества (150 г/л ниволумаба в 20 мМ гистидина, 250 мМ сахарозы, pH 6,0). Затем тангенциальная проточная фильтрация использовалась для замены буфера и приведения одной половины основной массы к pH 5,5 и приведения другой половины к pH 6,5. Для достижения среднего целевого значения pH 6,0 очищенное лекарственное вещество при pH 5,5 добавляли к очищенному лекарственному веществу при pH 6,5 до достижения целевого pH 6,0. Для каждого из 14 составов был приготовлен объем 50 мл. Концентрацию полисорбата 80, пентетовой кислоты и метионина в каждом составе регулировали добавлением различных количеств концентрированных растворов. После приготовления каждый состав пропускали через стерилизующий фильтр с размером пор 0,22 мкм, затем разливали в стеклянные флаконы объемом 3 мл, которые закупоривали и герметично закрывали. Затем заполненные флаконы были помещены на хранение при рекомендуемой температуре 5°C и при ускоренной стабильности при 25°C.

[0744] Образцы из каждой группы были проверены в начальной временной точке на внешний вид раствора, pH, концентрацию белка, однородность размеров способом SE-ВЭЖК и наличие субвидимых твердых частиц способом HIAC. Кроме того, варианты заряда определялись способом iCIEF, распределение молекулярной массы определяли способом CE-SDS (R&NR) и ферментативную активность определяли турбидиметрическим способом в планшетах. Образцы были снова протестированы через 1 месяц и 3 месяца хранения при ускоренных условиях 25°C и через 6 месяцев и 12 месяцев хранения при 5°C. Результаты стабильности представлены в таблицах от 34 до 39.

[0745] В начальной временной точке во всех четырех группах не наблюдалось изменений внешнего вида раствора, pH или концентрации ниволумаба. Аналогичные

исходные результаты наблюдались для однородности размеров по SE-ВЭЖК, вариантов заряда по iCIEF, вариантов размера по CE-SDS (R&NR) и ферментативной активности для групп 1, 3 и 4. Уровень HMWS для образцов группы 2 (комнатная температура, комнатное освещение и хранение при 30°C) был на 0,21% выше, чем в контроле, и уровень кислотных веществ для образцов группы 2 был на 1,4% выше, чем в контроле. Уровень субвидимых твердых частиц по HIAC был очень низким для всех образцов. Ферментативная активность для образца группы 2 была на 2,5% ниже, чем у контроля в начальной временной точке.

[0746] После шести месяцев хранения в ускоренных условиях при 25°C во всех четырех группах не произошло изменений во внешнем виде раствора, pH или концентрации ниволумаба. Уровень HMWS в группах 1, 3 и 4 был одинаковым, и уровень HWWS в группе 2 был на 0,15% выше, чем в контроле. Уровень LMWS был одинаковым и составлял 0,13% для всех четырех групп. Для вариантов заряда по iCIEF уровень кислотных веществ для группы 2 был на 2,7% выше, чем в контроле, и был аналогичен контролю для групп 1 и 3. Уровень основных соединений во всех четырех группах варьировался от 5,9% до 6,0% в шестимесячной временной точке. Уровень вариантов молекулярного размера во всех четырех группах находился в диапазоне от 99,7% до 99,8% для CE-SDS в восстанавливающих условиях и в диапазоне от 96,5% до 97,2% для CE-SDS в невосстанавливающих условиях. Через шесть месчцев количество субвидимых твердых частиц по данным HIAC было очень низким для всех образцов, без явных тенденций, и ферментативная активность для всех групп была определена в пределах 99,2% и 105,6% от контроля.

Таблица 34: Данные по стабильности для SC инъекционной формы ниволумаба — хранение при 25°C

Состав	Время (Месяцы при 25°C)	Внешний вид	pH раствора	Концентрация ниволумаба (мг/мл)	SE-ВЭЖК		
					HMWS (Площадь %)	Мономер (Площадь %)	LMWS (Площадь %)
1	0 1 3	Соответствует Соответствует Соответствует	6,46	127	0,72	99,17	0,10
2	0 1 3	Соответствует Соответствует Соответствует	6,41	102	0,66	99,22	0,12
3	0 1 3	Соответствует Соответствует Соответствует	5,99	102	0,62	99,27	0,11
4	0 1 3	Соответствует Соответствует Соответствует	5,97	117	0,62	99,28	0,09
5	0	Соответствует	5,49	133	0,59	99,32	0,09

	1 3	Соответствует Соответствует					
6	0 1 3	Соответствует Соответствует Соответствует	5,96	118	0,62	99,28	0,10
7	0 1 3	Соответствует Соответствует Соответствует	6,46	132	0,73	99,15	0,12
8	0 1 3	Соответствует Соответствует Соответствует	5,49	129	0,58	99,32	0,10
9	0 1 3	Соответствует Соответствует Соответствует	5,57	103	0,57	99,34	0,10
10	0 1 3	Соответствует Соответствует Соответствует	5,56	103	0,57	99,35	0,08
11	0 1 3	Соответствует Соответствует Соответствует	5,55	102	0,57	99,32	0,11
12	0 1 3	Соответствует Соответствует Соответствует	6,42	102	0,70	99,20	0,10
13	0 1 3	Соответствует Соответствует Соответствует	6,00	130	0,66	99,25	0,09
14	0 1 3	Соответствует Соответствует Соответствует	5,98	116	0,65	99,24	0,12

[a] Соответствует = раствор от прозрачного до слегка опалесцирующего, от бесцветного до бледно-желтого

Таблица 35: Данные по стабильности для SC инъекционной формы ниволумаба—хранение при 25°C

Состав	**Время (Месяцы при 25°C)**	**iCIEF**			**Ферментативная активность (Единицы/мл)**
		Кислотная группа (Площадь %)	**Главный пик (Площадь %)**	**Основная группа (Площадь %)**	
1	0 1 3	35,6	59,8	4,7	1,956
2	0 1 3	35,6	59,8	4,7	1,956
3	0 1 3	35,6	59,8	4,7	1,956
4	0 1 3	35,6	59,8	4,7	1,956
5	0 1 3	35,6	59,8	4,7	1,956
6	0 1 3	35,6	59,8	4,7	1,956
7	0 1 3	35,6	59,8	4,7	1,956
8	0	35,6	59,8	4,7	1,956

	1 3				
9	0 1 3	35,6	59,8	4,7	1,956
10	0 1 3	35,6	59,8	4,7	1,956
11	0 1 3	35,6	59,8	4,7	1,956
12	0 1 3	35,6	59,8	4,7	1,956
13	0 1 3	35,6	59,8	4,7	1,956
14	0	35,6	59,8	4,7	1,956
	3				
	6				

Таблица 36:	**Данные по стабильности для SC инъекционной формы ниволумаба—хранение при 25°C**				
				Твердые частицы	
Состав	**Время (месяцы при 25°C)**	**CE-SDS (Восст.) Чистота (площадь%)**	**CE-SDS (Невосст.) Чистота (площадь%)**	**Частицы/мл ≥ 10 мкм**	**Частицы/мл ≥ 25 мкм**
1	0 1 3	100,0	98,8	1	0
2	0 1 3	100,0	98,8	5	1
3	0 1 3	100,0	98,8	3	1
4	0 1 3	100,0	98,8	6	3
5	0 1 3	100,0	98,8	0	0
6	0 1 3	100,0	98,8	1	0
7	0 1 3	100,0	98,8	1	1
8	0 1 3	100,0	98,8	1	0
9	0 1 3	100,0	98,8	4	0
10	0 1 3	100,0	98,8	7	1

11	0 1 3	100,0	98,8	3	0
12	0 1 3	100,0	98,8	1	0
13	0 1 3	100,0	98,8	5	1
14	0 2 3	100,0	98,8	8	2

Таблица 37: Данные по стабильности для SC инъекционной формы ниволумаба—хранение при 5°C

Состав	Время (Месяцы при 5°C)	Внешний вид	pH раствора	Концентрация ниволумаба (мг/мл)	SE-ВЭЖК		
					HMWS (Площадь %)	Мономер (Площадь %)	LMWS (Площадь %)
1	0 6 12	Соответствует Соответствует Соответствует	6,46	127	0,72	99,17	0,10
2	0 6 12	Соответствует Соответствует Соответствует	6,41	102	0,66	99,22	0,12
3	0 6 12	Соответствует Соответствует Соответствует	5,99	102	0,62	99,27	0,11
4	0 6 12	Соответствует Соответствует Соответствует	5,97	117	0,62	99,28	0,09
5	0 6 12	Соответствует Соответствует Соответствует	5,49	133	0,59	99,32	0,09
6	0 6 12	Соответствует Соответствует Соответствует	5,96	118	0,62	99,28	0,10
7	0 6 12	Соответствует Соответствует Соответствует	6,46	132	0,73	99,15	0,12
8	0 6 12	Соответствует Соответствует Соответствует	5,49	129	0,58	99,32	0,10
9	0 6 12	Соответствует Соответствует Соответствует	5,57	103	0,57	99,34	0,10
10	0 6 12	Соответствует Соответствует Соответствует	5,56	103	0,57	99,35	0,08
11	0 6 12	Соответствует Соответствует Соответствует	5,55	102	0,57	99,32	0,11
12	0 6 12	Соответствует Соответствует Соответствует	6,42	102	0,70	99,20	0,10
13	0 6	Соответствует Соответствует	6,00	130	0,66	99,25	0,09

14	12 0 6 12	Соответствует Соответствует Соответствует Соответствует	5,98	116	0,65	99,24	0,12

[a] Соответствует = раствор от прозрачного до слегка опалесцирующего, от бесцветного до бледно-желтого

Таблица 38: Данные по стабильности для SC инъекционной формы ниволумаба—хранение при 5°C

Состав	Время (Месяцы при 5°C)	iCIEF			Ферментативная активность (Единицы/мл)
		Кислотная группа (Площадь %)	Главный пик (Площадь %)	Основная группа (Площадь %)	
1	0 6 12	35,6	59,8	4,7	1,956
2	0 6 12	35,6	59,8	4,7	1,956
3	0 6 12	35,6	59,8	4,7	1,956
4	0 6 12	35,6	59,8	4,7	1,956
5	0 6 12	35,6	59,8	4,7	1,956
6	0 6 12	35,6	59,8	4,7	1,956
7	0 6 12	35,6	59,8	4,7	1,956
8	0 6 12	35,6	59,8	4,7	1,956
9	0 6 12	35,6	59,8	4,7	1,956
10	0 6 12	35,6	59,8	4,7	1,956
11	0 6 12	35,6	59,8	4,7	1,956
12	0 6 12	35,6	59,8	4,7	1,956
13	0 6 12	35,6	59,8	4,7	1,956
14	0	35,6	59,8	4,7	1,956
	6				
	12				

Таблица 39:	**Данные по стабильности для SC инъекционной формы ниволумаба—хранение при 5°C**				
				Твердые частицы	
Состав	**Время (месяцы при 25°C)**	**CE-SDS (Восст.) Чистота (площадь%)**	**CE-SDS (Невосст.) Чистота (площадь%)**	**Частицы/мл ≥ 10 мкм**	**Частицы/мл ≥ 25 мкм**
1	0 6 12	100,0	98,8	1	0
2	0 6 12	100,0	98,8	5	1
3	0 6 12	100,0	98,8	3	1
4	0 6 12	100,0	98,8	6	3
5	0 6 12	100,0	98,8	0	0
6	0 6 12	100,0	98,8	1	0
7	0 6 12	100,0	98,8	1	1
8	0 6 12	100,0	98,8	1	0
9	0 6 12	100,0	98,8	4	0
10	0 6 12	100,0	98,8	7	1
11	0 6 12	100,0	98,8	3	0
12	0 6 12	100,0	98,8	1	0
13	0 6 12	100,0	98,8	5	1
14	0 6 12	100,0	98,8	8	2

Определение целевого объема заполнения флакона и избыточного объема заполнения

[0747] Обозначенная SC доза ниволумаба составляет 480 мг, что представляет собой инъекцию 4 мл лекарственного продукта с концентрацией ниволумаба 120 мг/мл. В каждый флакон включено избыточное количество SC инъекционной формы

ниволумаба, с тем чтобы учесть потери во флаконе, игле и шприце (VNS) во время применения продукта (в соответствии с USP <1151> минимальным рекомендуемым избыточным объемом заполнения) и учесть изменчивость фасовочной машины. Переполнение обеспечивает возможность извлечения из флакона заявленной на этикетке дозы SC инъекционной формы ниволумаба.

[0748] Было проведено исследование для определения фактического объема удержания SC инъекционной формы ниволумаба во флаконе, игле и шприце. Флаконы были заполнены ровно 4,50 мл лекарственного продукта, закупорены и герметично закрыты. Пять участников использовали иглу 20G 1,5" для забора содержимого флакона с помощью пластикового шприца объемом 5 мл. Иглу 20G 1,5" заменили на иглу 25G 5/8", и содержимое шприца было выведено в небольшую мензурку. Масса выведенного препарата была переведена в объем и вычтена из объема флакона, равного 4,50 мл. Удерживаемый объем у 5 участников колебался от 0,29 мл до 0,35 мл, в среднем составляя 0,32 мл. Было отмечено, что данное значение аналогично рекомендуемому USP <1151> превышению в 0,34 мл (экстраполированное значение) для флакона объемом 6 мл.

[0749] Во многих учреждениях для защиты медицинского персонала от контакта с лекарствами используются устройства передачи замкнутой системы (Closed system transfer devices (CSTD)). CSTD для прямого SC введения обычно состоит из 3 частей и включает адаптер флакона, адаптер шприца и адаптер иглы. Чтобы определить удерживаемый объем в CSTD, те же 5 участников повторили исследование, используя 6 наиболее распространенных CSTD. После того как CSTD прикреплен к флакону, его нельзя легко снять, поэтому в данной части исследования будет определен удерживаемый объем во флаконе плюс удерживаемый объем в CSTD и шприце.

[0750] Как и в предыдущей части исследования, флаконы 6R заполнялись ровно 4,50 мл раствора для инъекции ниволумаба, затем закупоривались и герметизировались. Пять участников использовали адаптер для флаконов CSTD и адаптер шприца CSTD для забора содержимого флакона в пластиковый шприц объемом 5 мл. Шприц отделяли от флакона, добавляли адаптер иглы CSTD и иглу 25G 5/8", и содержимое шприца выводили в небольшую мензурку. Масса выведенного препарата была переведена в объем и вычтена из объема флакона, равного 4,50 мл. Удерживаемый объем для 5 участников представлен в таблице 40. По всем 30 полученным результатам средний объем заполнения флакона плюс CSTD составил

0,46 мл при стандартном отклонении 0,06 мл. Однако наибольший удерживаемый объем для каждого из 6 различных CSTD варьировался от 0,46 до 0,58 мл. Таким образом, выбранный удерживаемый объем составляет 0,58 мл + 0,06 мл = 0,64 мл. При вариабельности разливочной машины 3% выбранное целевое наполнение составляет (4,00 мл + 0,64 мл)/0,97 = 4,78 мл.

Таблица 40:	**Объемы удержания флакон плюс CSTD для SC инъекционной формы ниволумаба**						
CSTD	**Удерживаемый объем 1 (мл)**	**Удерживаемый объем 2 (мл)**	**Удерживаемый объем 3 (мл)**	**Удерживаемый объем 4 (мл)**	**Удерживаемый объем 5 (мл)**	**Средний удерживаемый объем (мл)**	**Максимальный удерживаемый объем (мл)**
PhaSeal	0,41	0,50	**0,51**	0,51	0,43	0,47	0,51
ChemoLock	0,53	0,51	**0,58**	0,49	0,45	0,51	0,58
ChemoClave	0,44	0,40	0,45	**0,51**	0,41	0,44	0,51
OnGuard	0,42	0,46	0,34	**0,52**	0,43	0,43	0,52
Equashield	0,42	0,35	0,34	**0,46**	0,42	0,40	0,46
CareFusion	0,48	0,41	**0,57**	0,55	0,49	0,50	0,57

Описание и композиция коммерческого состава

[0751] Коммерческий состав для SC инъекционной формы ниволумаба, 600 мг/флакон (120 мг/мл) представляет собой стерильную, апирогенную жидкость от прозрачной до очень опалесцирующей, от бесцветной до желтой. Могут присутствовать немногочисленные частицы, похожие по внешнему виду на белковые частицы. Лекарственное средство представляет собой изотонический водный раствор без консервантов для однократного применения для подкожного (SC) введения. Ниволумаб для SC инъекционной формы упакован во флаконы из бесцветного стекла 6R Тип 1, укупоренные 20-мм бутиловыми пробками с покрытием Daikyo D21-7S Flurotec®, которые защищены 20-мм алюминиевыми колпачками с откидными крышками. Состав SC инъекционной формы ниволумаба, который включает стандарт качества и функцию каждого компонента, представлен в таблице 41. В каждый флакон включена дополнительная доза SC инъекционной формы ниволумаба, чтобы гарантировать, что указанное количество 5,0 мл может быть введено пациенту.

Таблица 41:	**Композиция SC инъекционной формы ниволумаба, 600 мг/флакон (120 мг/мл) Коммерческий состав**		
Компонент	**Стандарт качества**	**Функция**	**Количество во флаконе (мг)[a]**
Ниволумаб	Спецификация BMS	Активный ингредиент	780

L-гистидин [b]	USP, Ph.Eur.	Буферный агент	10,1
L-гистидин HCl H_2O	Ph.Eur.	Буферный агент	13,7
сахароза	NF, Ph.Eur.	Модификатор тоничности	556
Полисорбат 80	NF, Ph.Eur.	Поверхностно-активное вещество	3,25
Пентетовая кислота	USP	Хелатор ионов металлов	0,128
Метионин	USP, Ph.Eur.	Антиоксидант	4,85
rHuPH20	BMS/Halozyme	Эндогликозидаза	0,118
Хлорид натрия [b]	NA	NA	НА NA
Вода для инъекции	USP, Ph.Eur.	растворитель	qs составляет 6,50 мл

[a] Целевое наполнение включает переполнение на 1,5 мл для учета удержания флакона, иглы и шприца (VNS), изменчивости наполнительной машины и удержания компонентов для введения. [b] Хлорид натрия и гистидин присутствуют в лекарственной субстанции rHuPH20, но вносят незначительный вклад в конечный состав. EDSP = Фармакопея США, Ph.EEдг. = Европейская фармакопея, NF = Национальный формуляр, q.s. = достаточное количество

Отдельные физические и химические свойства

[0752] Отдельные физико-химические свойства лекарственного вещества ниволумаб 150 мг/мл, лекарственного продукта ниволумаб 120 мг/мл и буфера для разведения приведены в таблице 42.

Таблица 42: Отдельные физико-химические свойства 150 мг/мл лекарственного вещества ниволумаб, 120 мг/мл лекарственного продукта ниволумаб и буфера для разбавления

Свойство	**Лекарственное вещество**	**Лекарственный продукт**	**Буфер для разбавления**
Концентрация ниволумаба	150 мг/мл (135-180мг/мл)	120 мг/мл (108-132 мг/мл)	0 мг/мл
Состав (Целевые значения)	20 мМ гистидина, 250 мМ сахарозы, 0,05% масс./об. PS80, 50 мкМ пентетовой кислоты	20 мМ гистидина, 250 мМ сахарозы, 0,05% масс./об. PS80, 50 мкМ пентетовой кислоты, 5 мМ метионина, 2 КЕд/мл rHuPH20	20 мМ гистидина, 250 мМ сахарозы, 0,05% масс./об. PS80, 50 мкМ пентетовой кислоты, 25 мМ метионина, 10 КЕд/мл rHuPH20 [a]
pH раствора (при 18-22°C)	6,0 ± 0,5	6,0 ± 0,5	6,0 ± 0,5
Плотность (при 15-25°C)	1,078 г/мл	1,069 г/мл	1,033 г/мл
Вязкость	37 сП при 5°C 17 сП при 20°C	13 сП при 5°C 7 сП при 20°C	1,8 сП при 5°C 1,6 сП 20°C
Поверхностное натяжение (при 22°C)	46 мН/м	45 мН/м	42 мН/м
Осмоляль-ность	TBD	350±20%	330±20%

(мОсм/кг)			
Внешний вид	Жидкость от бесцветной до желтой, от прозрачной до очень опалесцирующей	Жидкость от бесцветной до желтой, от прозрачной до очень опалесцирующей, могут присутствовать легкие (немного) частицы (по внешнему виду соответствуют белковым частицам)	Нет описания внешнего вида, поскольку промежуточный продукт находится в процессе производства
Рекомендуемые условия хранения и транспортировки	≤ -35°C, в защищенном от света месте	2-8°C, в защищенном от света и замерзания месте	2-8°C, в защищенном от света и замерзания месте

[a] Точное количество метионина и rHuPH20 в буфере для разведения будет зависеть от концентрации ниволумаба в лекарственном веществе, используемом для изготовления партии. ссылка: ELN A0C6F-067, -079, -083, -085, -086.

Исследования стресса

Краткосрочное исследование влияния комнатной температуры и комнатного освещения

[0753] Цель данного исследования заключалась в оценке влияния кратковременного воздействия комнатной температуры/комнатного освещения (RT/RL) на SC инъекционную форму ниволумаба. Данные, полученные в данном краткосрочном исследовании, помогают получить информацию о длительности воздействия, которую следует использовать в более долгосрочных исследованиях стресса. Состав лекарственного продукта, использованный в данном исследовании, представлял собой 120 мг/мл ниволумаба в 20 мМ гистидиновом буфере pH 6,0, с 250 мМ сахарозы, 0,05% масс./об. полисорбата 80, 50 мкМ пентетовой кислоты, 5 мМ метионина и 2000 Ед/мл rHuPH20. Основной раствор (аликвоты по 5,67 мл) разливали в стеклянные флаконы объемом 10 мл, которые закупоривали и герметично закрывали. Затем флаконы по отдельности подвергались следующим нагрузкам. Флаконы были помещены в горизонтальное положение для наихудшего воздействия света: 25C/RL (комнатное освещение)- испытания через 7 дней, 14 дней и 28 дней при RT/RL; 25C/RL защита* - испытания через 7 дней, 14 дней и 28 дней при RT (*защита путем обертывания флаконов в алюминиевую фольгу).

[0754] Источником света служила галофосфатная лампа, заключенная в пластиковую трубку. Немаркированные флаконы были размещены на белой бумаге в горизонтальном положении на пластиковом подносе. Показания УФ-метра во всех четырех углах составляли 0 мкВт/см^2 в каждой временной точке. Показания светомера

в четырех углах были сняты в каждой временной точке и составляли от 933 лк до 1023 лк. После извлечения из стрессового состояния образцы хранились при температуре 5°C. В конце исследования все образцы были протестированы вместе. Тестирование включало внешний вид, pH, концентрацию белка, SE-ВЭЖК, уровень субвидимых частиц по HIAC, CE-SDS (R&NR), iCIEF и ферментативную активность.

[0755] Данные по стабильности, полученные в ходе исследования, представлены в таблицах с 43 по 45. Как представлено в таблице 43, визуально все образцы во всех временных точках представляли собой прозрачный или слегка опалесцирующий, бесцветный или бледно-желтый раствор. В течение 28 дней исследования не наблюдалось изменений в pH или концентрации белка ни в одном из образцов. Уровень HMWS увеличился на 0,12% для образцов, хранившихся в ускоренном режиме при 25°C, защищенном от света, и на 1,00% для образцов, хранившихся при 25°C и освещенности 1000 люкс. Уровень LMWS практически не изменился для всех образцов в течение 28 дней.

Таблица 43: Данные по стабильности для SC инъекционной формы ниволумаба

Условия хранения	Время (дни)	Внешний вид	pH раствора	Концентрация ниволумаба (мг/мл)	SE-ВЭЖК		
					HMWS (Площадь %)	Мономер (Площадь %)	LMWS (Площадь %)
25°C/ темнота	0	Соответствует	5,98	118	0,85	99,07	0,08
	7	Соответствует	5,99	117	0,89	99,03	0,08
	14	Соответствует	5,97	119	0,92	99,00	0,08
	28	Соответствует	6,00	121	0,97	98,94	0,09
25°C/ 1000 люкс	0	Соответствует	5,98	118	0,85	99,07	0,08
	7	Соответствует	5,98	119	1,15	98,77	0,08
	14	Соответствует	6,01	118	1,35	98,57	0,08
	28	Соответствует	5,96	118	1,85	98,05	0,09

[a] Соответствует = раствор от прозрачного до слегка опалесцирующего, от бесцветного до бледно-желтого.

[0756] В таблице 44 представлены данные по стабильности вариантов заряда по iCIEF и ферментативной активности. За 28 дней хранения уровень кислотных веществ увеличился на 1,0% для образцов, хранившихся в темноте при 25°C, и на 5,6% для образцов, хранившихся при 25°C/1,000 люкс. Уровень основных соединений был незначительно изменен при обоих условий хранения. Увеличение уровня кислотных веществ сопровождалось приблизительно таким же уменьшением площади основного пика. Ферментативная активность мало изменилась для образцов, хранившихся при 25°C в темноте, но снизилась на около 2% в день для образцов, хранившихся при 25°C/1 000 люкс.

Таблица 44:		**Данные по стабильности для SC инъекционной формы ниволумаба**			
Условия хранения	**Время (дни)**	**iCIEF**			**Ферментативная активность (Единицы/мл)**
		Кислотная группа (Площадь %)	**Главный пик (Площадь %)**	**Основная группа (Площадь %)**	
25°C/ темнота	0	34,6	60,2	5,3	2,022
	7	34,3	60,2	5,5	1,996
	14	34,8	59,3	5,9	2,022
	28	35,6	58,5	5,9	2,000
25°C/ 1000 люкс	0	34,6	60,2	5,3	2,022
	7	36,5	58,0	5,5	1,696
	14	37,1	57,2	5,7	1,362
	28	40,2	54,2	5,6	994

[0757] В таблице 45 представлены данные для CE-SDS в восстанавливающих условиях, CE-SDS в невосстанавливающих условиях и субвидимых твердых частиц. Независимо от того, хранились ли образцы на свету или в темноте, процент чистоты по CE-SDS в восстанавливающих условиях оставался неизменным в течение 28 дней. Процент чистоты по CE-SDS в невосстанавливающих условиях снизился на 0,4% за 28-дневный период хранения, как для образцов, находящихся на свету, так и защищенных от комнатного света. Уровень содержания субвидимых частиц был низким и не имел явных тенденций.

Таблица 45:		**Данные по стабильности для SC инъекционной формы ниволумаба**			
Условия хранения	**Время (дни)**	**CE-SDS (восст.) Чистота (Площадь %)**	**CE-SDS (невосст) Чистота (Площадь %)**	**Твердые частицы**	
				Частицы/мл ≥ 10 мкм	**Частицы /мл ≥ 25 мкм**
25°C/ темный	0	100,0	99,5	5	2
	7	100,0	99,4	8	0
	14	100,0	99,2	5	0
	28	100,0	99,1	2	0
25°C/ 1000 люкс	0	100,0	99,5	5	2
	7	100,0	99,3	8	0
	14	100,0	99,2	8	0
	28	100,0	99,1	8	0

[0758] Исходя из результатов данного исследования, рекомендуется ограничить воздействие комнатного освещения на лекарственный продукт.

Краткосрочная стабильность rHuPH20 в SC инъекционной форме ниволумаба при хранении при 25-40°C

[0759] Было проведено исследование для оценки влияния температуры хранения на активность фермента rHuPH20 при хранении SC инъекционной формы

ниволумаба в течение 24 часов при температуре от 25°C до 40°C. Отдельные флаконы с лекарственным продуктом хранились при 25°C, 32°C, 36°C и 40°C в темноте до 24 часов. После периода хранения образцы тестировали на активность rHuPH20. Каждый образец тестировался в трех повторах. Образец, который постоянно хранился при 5°C, также был протестирован в качестве контроля. Результаты приведены в таблице 46.

Таблица 46: Влияние температуры хранения на ферментативную активность для SC инъекционной формы ниволумаба при хранении при различных температурах в течение 24 часов в темноте

Температура хранения	Анализ №1 (единицы/мл)	Анализ №2 (единицы/мл)	Анализ №3 (единицы/мл)	Средняя ферментативная активность (единицы/мл)	Ферментативная активность как % контроля, хранимого при 5°C
5°C (Контроль)	2039	1982	1826	1949	100,0
25°C	2043	1937	1891	1957	100,4
32°C	2005	1797	1809	1870	95,9
36°C	2006	1916	1774	1899	97,4
40°C	1337	1565	1546	1483	76,1

[0760] Хотя результаты по ферментативной активности демонстрируют значительную вариабельность, наблюдается тенденция снижения стабильности с повышением температуры. Таким образом, время хранения лекарственного продукта при температуре выше 25°C должно быть ограничено.

Исследование физического стресса

[0761] Было проведено исследование для изучения влияния физических нагрузок на стабильность SC инъекционной формы ниволумаба. Физические нагрузки, оказываемые на лекарственный продукт, были аналогичны тем, которые обычно возникают при производстве, транспортировке или применении. Нагрузки включали замораживание-размораживание (группа 1), воздействие комнатной температуры, воздействие комнатного освещения, воздействие высокой температуры (группа 2), удар и встряхивание (группа 3) и непрерывное хранение при 5°C, защищенное от света (группа 4 - контроль). Была приготовлена партия SC инъекционной формы ниволумаба, и аликвоты лекарственного продукта объемом 3,0 мл были разлиты в флаконы объемом 6 мл, которые затем были закупорены и запечатаны. Заполненные флаконы подвергались различным нагрузкам, затем помещались в камеру на ускоренную стабильность при 25°C.

[0762] В ходе исследования по замораживанию-размораживанию (группа 1)

заполненные флаконы четыре раза циклировали между -20°C и 5°C, при этом минимальное время замораживания при -20°C составляло 16 часов и минимальное время оттаивания при 5°C составляло 8 часов. Было замечено, что раствор во флаконах полностью замерзал после 2-3 часов хранения при -20°C и полностью оттаивал после 6-7 часов хранения при 5°C. При комнатной температуре, комнатном освещении и высокой температуре (группа 2) флаконы хранились 22 дня при 25°C, защищенные от света. Флаконы группы 2 также дважды выводились из условий хранения при 25°C/темноте: 72 часа (3 дня) при 25°C при освещенности 1000 люкс и 72 часа (3 дня) при 30°C, защищенные от света. Для стресса, связанного с ударом и встряхиванием (группа 3), флаконы пять раз сбрасывали с высоты 36 дюймов и затем помещали в наихудшем горизонтальном положении на орбитальный шейкер со скоростью 120 об/мин на 24 часа. Сбрасывание флаконов и орбитальное встряхивание проводилось как при 5°C, так и при комнатной температуре (приблизительно 22°C). Образцы лекарственного продукта группы 4, контрольная группа, оставались в защищенном от света месте при температуре 5°C.

[0763] Образцы из каждой группы были проверены в начальной точке времени на внешний вид раствора, pH, концентрацию белка, однородность размера способом SE-ВЭЖК и наличие субвидимых твердых частиц способом HIAC. Кроме того, варианты заряда определялись способом iCIEF, распределение молекулярной массы определялось способом CE-SDS (R&NR), и ферментативная активность определялась турбидиметрическим способом на пластинах. Образцы были снова протестированы через 3 месяца и 6 месяцев хранения при ускоренном режиме 25°C. Результаты стабильности представлены в таблицах от 47 до 49.

Таблица 47 **Данные исследования по устойчивости к физическим нагрузкам**

Стрессовое состояние	**Время (месяцев при 25°C)**	**Внешний вид**	**pH раствора**	**Концентрация ниволумаба (мг/мл)**	**SE-ВЭЖК**		
					HMWS (Площадь %)	**Мономер (Площадь %)**	**LMWS (Площадь %)**
Группа 1	0	Соответствует	5,96	121	0,86	99,07	0,07
(4 X F/T,	3	Соответствует	6,01	119	1,00	98,88	0,12
от -20°C до +5°C)	6	Соответствует	5,97	123	1,29	98,58	0,13
Группа 2	0	Соответствует	5,93	119	1,06	98,86	0,08
(25°C, 30°C,	3	Соответствует	5,99	120	1,15	98,71	0,13
RT/RL)	6	Соответствует	5,92	121	1,45	98,42	0,13
Группа 3	0	Соответствует	5,94	119	0,87	99.06	0,08
(Шок и	3	Соответствует	5,98	118	1,00	98,90	0,10
встряхивание)	6	Соответствует	5,93	121	1.30	98,56	0,13

Группа 4 (Хранение в темноте при 5°C контроль)	0	Соответствует	5,95	121	0,85	99,06	0,08
	3	Соответствует	6,02	122	0,97	98,94	0,09
	6	Соответствует	5,94	120	1,30	98,58	0,13

[a] Соответствует = раствор от прозрачного до слегка опалесцирующего, от бесцветного до бледно-желтого.

Таблица 48: Данные исследования по устойчивости к физическим нагрузкам

Стрессовое состояние	Время (Месяцы при 25°C)	iCIEF			Ферментативная активность (Единицы/мл)
		Кислотная группа (Площадь %)	Главный пик (Площадь %)	Основная группа (Площадь %)	
Группа 1 (4 X F/T, от -20°C до +5°C)	0	35,6	59,8	4,7	1,956
	3	40,1	54,0	5,9	1,936
	6	40,5	53,6	5,9	2,025
Группа 2 (25°C, 30°C, RT/RL)	0	37,0	57,8	5.3	1,855
	3	40,9	53,2	5,9	1,816
	6	44,0	49,9	6,0	1,901
Группа 3 (Шок и встряхивание)	0	35,6	59,8	4,6	1,940
	3	39,4	55,0	5,6	1,936
	6	41,3	52,8	5,9	1,959
Группа 4 (Хранение в темноте при 5°C контроль)	0	35,6	59,8	4,6	1,903
	3	39,0	55,1	5,9	1,952
	6	41,3	52,8	6,0	1,917

Таблица 49: Данные исследования по устойчивости к физическим нагрузкам

Стрессовое состояние	Время (Месяцы при 25°C)	CE-SDS (восст.) Чистота (Площадь %)	CE-SDS (невосст) Чистота (Площадь %)	Твердые частицы	
				Частицы/мл ≥ 10 мкм	Частицы /мл ≥ 25 мкм
Группа 1 (4 X F/T, от -20°C до +5°C)	0	100,0	98,8	8	0
	3	99,9	99,4	8	3
	6	99,7	97,2	10	1
Группа 2 (25°C, 30°C, RT/RL)	0	100,0	98,5	8	0
	3	99,9	99,2	5	1
	6	99,7	96,5	6	0
Группа 3 (Шок и встряхивание)	0	100,0	98,8	3	1
	3	99,9	99,3	7	0
	6	99,8	96,8	4	0
Группа 4 (Хранение в темноте при 5°C контроль)	0	100,0	98,6	17	3
	3	99,9	99,3	6	0
	6	99,8	96,8	14	2

[0764] В начальной временной точке во всех четырех группах не наблюдалось

изменений во внешнем виде раствора, pH или концентрации ниволумаба. Аналогичные исходные результаты наблюдались для однородности размера по SE-ВЭЖК, вариантов заряда по iCIEF, вариантов размера по CE-SDS (R&NR) и ферментативной активности для групп 1, 3 и 4. Уровень HMWS для образцов группы 2 (комнатная температура, комнатное освещение и хранение при 30°C) был на 0,21% выше, чем в контроле, и уровень кислотных веществ для образцов группы 2 был на 1,4% выше, чем в контроле. Уровень субвидимых твердых частиц по HIAC был очень низким для всех образцов. Ферментативная активность для образца группы 2 была на 2,5% ниже, чем у контроля в начальной временной точке.

[0765] После шести месяцев хранения в ускоренных условиях при 25°C во всех четырех группах не произошло изменений во внешнем виде раствора, pH или концентрации ниволумаба. Уровень HMWS в группах 1, 3 и 4 был одинаковым и уровень HWWS в группе 2 был на 0,15% выше, чем в контроле. Уровень LMWS был одинаковым и составлял 0,13% для всех четырех групп. Для вариантов заряда по iCIEF уровень кислотных веществ для группы 2 был на 2,7% выше, чем в контроле, и был аналогичен контролю для групп 1 и 3. Уровень основных веществ во всех четырех группах колебался от 5,9% до 6,0% в шестимесячной временной точке. Уровень вариантов молекулярного размера во всех четырех группах был в диапазоне от 99,7% до 99,8% для CE-SDS в восстанавливающих условиях и в диапазоне от 96,5% до 97,2% для CE-SDS в невосстанавливающих условиях. Через шесть месяцев количество субвидимых твердых частиц по данным HIAC было очень низким для всех образцов, без явных тенденций, и ферментативная активность для всех групп была определена в пределах 99,2% и 105,6% от контроля.

Время вне холодильника и время при комнатном освещении

[0766] Рекомендуемые условия хранения для SC инъекционной формы ниволумаба составляют 2-8°C, защищенные от света. На основании данных, полученных в ходе краткосрочного исследования влияния комнатной температуры/комнатного освещения (RT/RL), краткосрочной стабильности rHuPH20 при 25-40°C и исследования физических нагрузок, для лекарственного продукта может быть установлено время пребывания вне холодильника и время пребывания при комнатном освещении. Краткосрочное исследование RT/RL показало чувствительность к комнатному свету, исследование rHuPH20 показало чувствительность фермента к более высоким температурам, и данные исследования

физических нагрузок показали минимальное влияние на качественные характеристики от нагрузок, которые могут возникнуть в процессе производства, транспортировки или применения лекарственного продукта. На основании результатов данных исследований можно рекомендовать время отсутствия холодильника/время при комнатном освещении (time out of refrigeration/time at room свет (TOR/TARL)) для готового лекарственного продукта. Такой TOR/TARL охватывает период времени, который начинается с момента наложения пломбы на флакон и заканчивается началом подготовки к введению пациенту, и включает действия после наполнения (обращение с флаконом, осмотр, отбор проб, маркировка, вторичная упаковка и подготовка к транспортировке) и температурные отклонения во время транспортировки вплоть до начала подготовки дозы для введения пациенту.

[0767] Рекомендуемые условия хранения SC инъекционной формы ниволумаба составляют 2-8°C, защищенные от света. Допускаются отклонения от рекомендуемых условий хранения на срок до 28 дней при температуре до 25°C, включая хранение при комнатной температуре и комнатном освещении в течение 72 часов и хранение при 30°C в течение 72 часов.

Температура замораживания лекарственного продукта во флаконе

[0768] В рамках оценки физических нагрузок было проведено исследование для определения температуры, при которой SC инъекционная форма ниволумаба замерзает при заполнении стеклянного флакона объемом 6 мл и хранении при отрицательных температурах в течение относительно короткого периода времени. Шесть флаконов с SC инъекционной формой ниволумаба, 3 мл на флакон, были помещены на водяную баню с регулируемой температурой. Температуру бани понижали до -8°C (температура подтверждена калиброванной термопарой) и выдерживали в течение 9 часов. По истечении 9 часов флаконы осматривали, чтобы определить, не замерз ли раствор во флаконах. Затем температуру бани понижали до -10°C и выдерживали еще 15 часов. Через 15 часов при температуре -10°C флаконы снова осматривали, чтобы определить, не замерз ли раствор в пробирках. Затем температуру бани понижали до -12°C и выдерживали в течение 9 часов. Все 6 флаконов замерзли после 9 часов хранения при -12°C.

[0769] Результаты исследования приведены в таблице ниже. После 9 часов при -8°C, затем 15 часов при -10°C все образцы все еще находились в состоянии раствора. Через 9 часов при -12°C все шесть флаконов замерзли. Таким образом, температура замерзания SC инъекционной формы ниволумаба при заполнении стеклянного

флакона составляет от -12°C до -10°C, и раствор во флаконах не замерзает при хранении в течение 15 часов при температуре до -10°C.

Таблица 50: Результаты исследования температуры замерзания						
Температура бани и Период выдерживания	**Заморожено (+) или не заморожено (-) в конце стадии выдерживания**					
	Флакон 1	**Флакон 2**	**Флакон 3**	**Флакон 4**	**Флакон 5**	**Флакон 6**
-8,0°C в течение 9 часов	-	-	-	-	-	-
-10,0°C в течение 15 часов	-	-	-	-	-	-
-12,0°C в течение 9 часов	+	+	+	+	+	+

Общая информация о продукте

[0770] Некоторые общие сведения о лекарственном веществе и лекарственном продукте приведены ниже. Лекарственное вещество ниволумаб хранится при ≤ -35°C в мешках 12-L FFTp с защитой от света. Условиями хранения лекарственного продукта являются 2-8°C, с защитой от света. Композиции лекарственного вещества и лекарственного продукта приведены в таблице 51, отдельные свойства лекарственного вещества, лекарственного продукта и буфера для разведения приведены в таблице 52.

Таблица 51		
Описание	**Лекарственное вещество**	**Лекарственный продукт 60 мг/флакон и 600 мг/флакон**
Ниволумаб (BMS-986298)	Цель 150 мг/мл (135–180 мг/мл)	120 мг/мл
Гистидин/гистидин HCl моногидрат	20 мМ[b]	20 мМ[b]
Сахароза	250 мМ	250 мМ
Полисорбат 80	0,05% масс./об.	0,05% масс./об.
Пентетовая кислота	50 мкМ	50 мкМ
Метионин	N/A[a]	5 мМ
rHuPH20	N/A[a]	2000 Ед/мл
Хлорид натрия	N/A[b]	N/A[b]
Целевой pH	6,0	6,0

[a] Метионин и rHuPH20 добавляют к буферу для разведения, который затем добавляют к лекарственному веществу для создания лекарственного продукта. [b] Хлорид натрия и гистидин присутствуют в лекарственном веществе rHuPH20, но вносят незначительный вклад в конечный состав.

Таблица 52: Отдельные свойства лекарственного вещества, лекарственного продукта и буфера для разбавления			
Свойство	**Лекарственное вещество**	**Лекарственный продукт**	**Буфер для разбавления**

Концентрация ниволумаба	150 мг/мл (135-180 мг/мл)	120 мг/мл (108-132 мг/мл)	0 мг/мл
pH раствора (при 18-22°C)	6,0 ± 0,5	6,0 ± 0,5	6,0 ± 0,5
Плотность (при 15-25°C)	1,078 г/мл	1,069 г/мл	1,033 г/мл
Вязкость	37 сП при 5°C, 17 сП при 20°C	13 сП при 5°C, 7 сП при 20°C	1,8 сП при 5°C, 1,6 сП при 20°C
Поверхностное натяжение (при 22°C)	46 мН/м	45 мН/м	42 мН/м

Пример 2. Ниволумаб подкожно с rHuPH20 или без нее

[0771] В текущем исследовании фазы 1/2 оценивались PK (фармакокинетика), безопасность, эффективность и переносимость монотерапии ниволумабом, вводимым подкожно (SC) с гиалуронидазой rHuPH20 или без нее у пациентов с солидными опухолями (метастатическая меланома, RCC, NSCLC, HCC, and CRC), где PK, эффективность, безопасность и иммуногенность ниволумаба после внутривенного введения были хорошо изучены. Другие солидные опухоли, где PK ниволумаба при IV введении хорошо изучена (гастроэзофагеальный переход [GEJ], рак желудка (GC), метастатическая уротелиальная карцинома (mUC) и SCCHN были разрешены).

[0772] Начальная SC доза, выбранная для части A, составила 720 мг Q4W. Основываясь на предварительных PK-данных из части A и последующем моделировании, исследование продолжалось в соответствии с планом со второй дозой 960 мг Q4W для части B.

[0773] Для частей A и B была охарактеризована PK однократной SC дозы ниволумаба (с rHuPH20 и без нее) с последующим внутривенным введением ниволумаба в дозе 480 мг Q4W на 4-й неделе. Полученные данные по PK для SC введения были использованы для обновления существующей модели PPK для внутривенного введения. Комбинированная модель SC/IV PPK затем использовалась для выбора режима дозирования SC ниволумаба в дозе 1200 мг Q4W для использования в последующих исследованиях.

[0774] В частях C и D будут представлены дополнительные данные по PK и безопасности после SC введения 1200 мг Q4W в части C (приблизительно 45 пациентов) и части D (приблизительно 36 пациентов). Часть C была разработана для характеристики PK и безопасности исследования непрерывного дозирования SC ниволумаба в дозе 1200 мг Q4W в контексте перехода с внутривенного введения

(переход от частей A и B). Часть D включает изучение PK и безопасности непрерывного дозирования SC ниволумаба в дозе 1200 мг Q4W с момента начала терапии. Будет проведен промежуточный анализ, включающий оценку PK перед дозой Цикла 2 День 1 и ранней безопасности приблизительно у 10 субъектов с дозой 1200 мг.

[0775] Основной целью частей A-D является описание PK SC ниволумаба с rHuPH20 или без нее, с оценкой по множеству показателей, включая Cavgd28, Cmind28 и Cmax1.

[0776] Первичные цели исследований частей A-D заключаются в описании фармакокинетики ниволумаба, вводимого подкожно, с rHuPH20 или без нее, и конечными точками являются Cmax, Tmax, AUC(TAU) и Ctau (части A, B и D) и Ctau (часть C). Вторичные цели включают (i) оценку профиля безопасности SC ниволумаба; (ii) оценку частоты возникновения АЭ в широком стандартизированном запросе MedDRA (standardized MedDRA query (SMQ)) "Анафилактическая реакция" и выбранной категории АЭ "Гиперчувствительность/инфузионная реакция"; и (iii) оценку иммуногенности ниволумаба. Вторичные конечные точки включают (i) частоту возникновения АЭ, ОАЭ, АЭ, приведших к прекращению лечения, смертей и лабораторных отклонений; (ii) частоту возникновения АЭ в широком SMQ анафилактических реакций, возникающих в течение 2 дней после введения исследуемого препарата; (iii) частоту событий в категории гиперчувствительности/инфузионных реакций в выбранных АЭ, возникающих в течение 2 дней после введения исследуемого препарата; и (iv) частоту появления антител к ниволумабу и нейтрализующих антител, если применимо. Исследовательские цели включают (i) оценку предварительной эффективности у всех участников; (ii) характеристику биомаркерных показателей иммунной функции, генетики и геномики опухолей; (iii) оценку иммуногенности rHuPH20; и (iv) предварительную оценку опыта участников и их предпочтений в отношении введения ниволумаба подкожно или внутривенно. Исследовательские конечные точки включают (i) ОРР, PFS и OS; (ii) суммарные показатели изменения (или % изменения) от исходного уровня различных биомаркеров и молекулярных характеристик опухоли; (iii) частоту появления антител против rHuPH20 и нейтрализующих антител, если применимо; и (iv) анкету опыта/предпочтений пациентов и качественные интервью с пациентами.

[0777] **Результаты**

[0778] Тридцать два испытуемых получили лечение однократной дозой ниволумаба (либо 720 мг, либо 960 мг), введенной посредством SC инъекции совместно с rHuPH20, после чего ниволумаб был введен внутривенно. Промежуточный анализ был проведен после того, как все испытуемые в части B (группа 3) завершили 1 цикл SC ниволумаба. 22 человека из части A - группа 1 (720 мг + rHuPH20) и 10 человек из части B - группа 3 (960 мг + rHuPH20) были проанализированы для получения данных по эффективности и ранней безопасности. Формальные результаты по эффективности на момент блокировки отсутствуют из-за короткого периода наблюдения.

[0779] По состоянию на DBL (минимальный преддозовый день 1 2-го цикла у всех пациентов группы 3 части B) медиана последующего наблюдения для части A - группы 1 (N = 22) составила 4,4 месяца (диапазон: 2,4 - 8,8 месяца), и для части B - группы 3 (N = 10) составила 2,5 месяца (диапазон: 2,1 - 3,5 месяца).

[0780] Исходные характеристики заболеваний участников исследования приведены в таблице 53. Было 14 мужчин и 18 женщин. Медиана (диапазон) возраста всех пациентов составила 66,5 (от 48 до 90) лет. 32 участника исследования представляют собой разнообразную популяцию пациентов, включая пациентов с разным возрастом, массой и опухолями (NSCLC, CRC, RCC, HCC, меланома и SCCHN) в прогрессирующей/метастатической стадии.

Таблица 53A: Базовые характеристики

	Число субъектов (%)		
	Часть A –Группа 1 N = 22	Часть B – Группа 3 N = 10	Всего N = 32
ТИП ОПУХОЛИ			
Колоректальный рак	6 (27,3)	3 (30,0)	9 (28,1)
Гепатоцеллюлярная карцинома	2 (9,1)	0	2 (6,3)
Меланома	2 (9,1)	0	2 (6,3)
Немелкоклеточная карцинома легкого	7 (31,8)	3 (30,0)	10 (31,3)
Почечно-клеточная карцинома	5 (22,7)	3 (30,0)	8 (25,0)
Не сообщено	0	1 (10,0)	1 (3,1)
Пациенты с количественной оценкой PD-L1 на исходном уровне (N(%))	18 (81,8)	3 (30,0)	21 (65,6)
Пациенты с экспрессией PD-L1 на исходном уровне >= 1%	9 (50,0)	3 (100,0)	12 (57,1)
Пациенты с экспрессией PD-L1 на исходном уровне < 1%	9 (50,0)	0	9 (42,9)

Пациенты с экспрессией PD-L1 на исходном уровне >= 5%	7 (38,9)	2 (66,7)	9 (42,9)
Пациенты с экспрессией PD-L1 на исходном уровне < 5%	11 (61,1)	1 (33,3)	12 (57,1)
Пациенты с экспрессией PD-L1 на исходном уровне >= 50%	3 (16,7)	0	3 (14,3)
Пациенты с экспрессией PD-L1 на исходном уровне < 50%	15 (83,3)	3 (100,0)	18 (85,7)
Предыдущие линии терапии			
0	2 (9,1)	2 (20,0)	4 (12.5)
1	0	0	0
2	13 (59,1)	4 (40,0)	17 (53,1)
>= 3	5 (22,7)	4 (40,0)	9 (28,1)
Не сообщено	2 (9,1)	0	2 (6,3)
Статус работоспособности (EGOG) [%]			
0	9 (40,9)	3 (30,0)	12 (37,5)
1	13 (59,1)	7 (70,0)	20 (62,5)

[0781] *Предварительные данные по безопасности*

[0782] Группа 1 (доза 720 мг + rHuPH20 SC с последующим внутривенным введением): AE (Adverse Event, нежелательное явление) любого уровня, связанные с лечением (treatment-related AE (TRAE)), были зарегистрированы у 10 (45,5%) пациентов и были в целом известными AE в рамках программы введения ниволумаба внутривенно (таблица 54B). У 3 (14%) испытуемых были зарегистрированы эритема, раздражение и отек в месте SC введения.

[0783] Группа 3 (960 мг + доза rHuPH20 SC, затем внутривенно): TRAE любого класса были зарегистрированы у 3 (30%) субъектов, которые включали иммуноопосредованную кожную сыпь 1-2 класса, сетчатое ливедо и местные реакции. Эритема низкой степени, прурит и отек в месте SC введения были зарегистрированы у 2 (20%) субъектов. На момент проведения DBL в группе 3 не было зарегистрировано никаких серьезных нежелательных явлений (Serious Adverse Event (SAE)), связанных с лечением (treatment-related AE (TRSAE)).

[0784] Ранние анализы безопасности субъектов, получавших SC ниволумаб 720 мг + rHuPH20 (группа 1) и 960 мг СК + rHuPH20 (группа 3), носят описательный характер (и не предназначены для сравнения между группами). Клинический профиль безопасности однократной дозы SC ниволумаба с последующим внутривенным введением (цикл 2+) отражает связанные с лечением AE и SAE, о которых ранее сообщалось в рамках IB IV (внутривенного) введения ниволумаба,

за исключением местных реакций при SC введении. Что касается местных AE при SC введении, то неожиданных местных реакций не было, и все зарегистрированные события были низкого уровня и управляемыми. Все 32 субъекта в группах 1 и 3 прошли день 1 цикла 1 SC дозы ниволумаба (720 мг или 960 мг) + rHuPH20, вводимой в виде однократной ручной инъекции объемом 6 мл или 8 мл, соответственно.

[0785] В ходе исследования произошло две смерти в результате прогрессирования заболевания (ни одна из них не была связана с исследуемым лекарственным препаратом).

[0786] Сводка данных по AE, TRAE и TRSAE представлена в таблицах 2A-2C, соответственно.

Таблица 54A: Сводка нежелательных явлений - все лечившиеся субъекты, группа 1 и группа 3 - Промежуточный анализ

	ЧАСТЬ A - Группа 1, N = 22			**ЧАСТЬ B - Группа 3, N = 10**		
	Любая степень (%)	**Степень 3-4 (%)**	**Степень 5 (%)**	**Любая степень (%)**	**Степень 3-4 (%)**	**Степень 5 (%)**
Любое AE,	21 (95,5)	4 (18,2)	2 (9,1) [a]	10 (100)	2 (20)	0
Связанные с лекарством AE	10 (45,5)	1 (4,5)	0	3 (30)	0	0
Связанные с лекарством AE, ведущие к DC	1 (4,5)	1 (4,5)	0	0	0	0
SAE	5 (22,7)	5 (22,7)	2 (9,1)[a]	3 (30)	3 (30)	0
Связанные с лекарством SAE	1 (4,5)	1 (4,5)	0	0	0	0

[a] Степень 5: Смерть от прогрессирования злокачественного новообразования, 50-летний мужчина, RCC с метастазами в легкие; и смерть от прогрессирования злокачественного новообразования, 76-летний мужчина CRC

Таблица 54B: Сводка нежелательных явлений, связанных с приемом лекарства, по наихудшей оценке CTC - все лечившиеся субъекты, группа 1 и группа 3 - Промежуточный анализ

Класс систем органов (%) Предпочтительный термин (%)	ЧАСТЬ A - ГРУППА 1 N = 22			ЧАСТЬ B - ГРУППА 3 N = 10		
	Любая степень	Степень 3-4	Степень 5	Любая степень	Степень 3-4	Степень 5

ВСЕГО СУБЪЕКТОВ С СОБЫТИЕМ	10 (45,5)	1 (4,5)	0	3 (30,0)	0	0
Общие расстройства и нарушения в месте введения	4 (18,2)	0	0	2 (20,0)	0	0
Усталость	2 (9,1)	0	0	0	0	0
Еритема в месте инъекции	2 (9,1)	0	0	1 (10,0)	0	0
Еритема в месте введения	0			1 (10,0)		
Раздражение в месте инъекции	1 (4,5)	0	0	0	0	0
Пруритус в месте инъекции	0	0	0	1 (10,0)	0	0
Припухлость в месте инъекции	1 (4,5)	0	0	1 (10,0)	0	0
Нарушения опорно-двигательного аппарата и соединительной ткани	3 (13,6)(	0	0	0	0	0
Артралгия	2 (9,1)	0	0	0	0	0
Артрит	1 (4,5)	0	0	0	0	0
Псориатическая артропатия	1 (4,5)	0	0	0	0	0
Эндокринные нарушения	2 (9,1)	0	0	0	0	0
Гипертиреоз	2 (9,1)	0	0	0	0	0
Нарушения кожных и подкожных тканей	2 (9,1)	0	0	2 (20,0)	0	0
Пруритус	2 (9,1)	0	0	0	0	0
Сетчатое ливедо	0	0	0	1 (10,0)	0	0
Макулярная сыпь	0	0	0	1 (10,0)	0	0
Сердечные наружения	1 (4,5)	1 (4,5)	0		0	0
Сердечная застойная недостаточность	1 (4,5)	1 (4,5)	0		0	0
Желудочно-кишечные нарушения	1 (4,5)	0	0	0	0	0
Диаррея	1 (4,5)	0	0	0	0	0
Повреждения, отравление и процедурные осложнения	1 (4,5)	0	0	0	0	0
Связанная с инфузией реакция	1 (4,5)	0	0	0	0	0
Почечные и мочевые расстройства	1 (4,5)	1 (4,5)	0	0	0	0
Тубулоинтерстициальный нефрит	1 (4,5)	1 (4,5)	0	0	0	0

Таблица 54C: Сводка серьезных нежелательных явлений, связанных с приемом лекарства, - все лечившиеся субъекты, группа 1 и группа 3 - Промежуточный анализ

Класс систем органов (%) Предпочтительный термин (%)	ЧАСТЬ A - ГРУППА 1 N = 22			ЧАСТЬ B - ГРУППА 3 N = 10		
	Любая степень	Степень 3-4	Степень 5	Любая степень	Степень 3-4	Степень 5
ВСЕГО СУБЪЕКТОВ С СОБЫТИЕМ	1 (4,5)	1 (4,5)	0	0	0	0
Сердечные наружения	1 (4,5)	1 (4,5)	0		0	0
Сердечная застойная недостаточность	1 (4,5)	1 (4,5)	0		0	0
Почечные и мочевые расстройства	1 (4,5)	1 (4,5)	0	0	0	0
Тубулоинтерстициальный нефрит	1 (4,5)	1 (4,5)	0	0	0	0

[0787] *Популяционный фармакокинетический анализ комбинированных SC/IV данных по ниволумабу*

[0788] Для характеристики фармакинетики (PK) SC ниволумаба и оптимизации подбора дозы SC ниволумаба был использован подход популяционного фармакокинетического (population pharmacokinetic (PPK)) моделирования и имитации. Цель данного анализа, основанного на моделировании, заключалась в построении PPK-модели, которая описывает данные о концентрации ниволумаба при введении как подкожно, так и внутривенно. Данные о концентрации ниволумаба после введения первой SC дозы в рамках текущих испытаний частей A и B были получены от 29 испытуемых в двух уровнях дозы, включая 720 мг SC ниволумаба + rHuPH20 (часть A - группа 1) и 960 мг SC ниволумаба + rHuPH20 (часть B - группа 3). Полученные данные по концентрации при SC введении были объединены с существующими данными по концентрации при IV введении, чтобы разработать комбинированную SC/IV PPK-модель для ниволумаба. Компонент внесосудистой абсорбции был добавлен к существующей PPK-модели для IV введения, после чего были оценены соответствующие параметры абсорбции, включая BA (F1) и константу скорости абсорбции (ka). Оценки PK-параметров, полученные с помощью комбинированной модели SC/IV, обобщены в таблице 55.

Таблица 55: Оценки PK-параметров на основе комбинированной SC/IV PPK-модели ниволумаба

Параметры[a,b] [Единицы измерения]	**Оценка[c]**	**Стандартная ошибка (RSE%)[d]**	**95%-ный доверительный интервал[e, BS]**

Фиксированные эффекты			
CL [L/h]	0,0109	3,17E-04 (2,90)	0,0105 - 0,0114
VC [L]	4,26	0,0398 (0,936)	4,19 - 4,32
Q [L/h]	0,0335	0,00203 (6,07)	0,0305 - 0,0377
VP [L]	2,61	0,0831 (3,18)	2,46 - 2,73
CL_{BBWT}	0,588	0,0315 (5,36)	0,532 - 0,639
CL_{GFR}	0,147	0,0230 (15,6)	0,111 - 0,184
CL_{SEX}	-0,163	0,0161 (9,83)	-0,191 - -0,137
CL_{PS}	0,165	0,0137 (8,32)	0,141 - 0,187
CL_{OTH}	0,0243	0,0184 (76,0)	-0,005 - 0,0537
VC_{BBWT}	0,628	0,0358 (5,70)	0,570- 0,685
VC_{SEX}	-0,136	0,0180 (13,2)	-0,167 - -0,107
CL_{GC}	0,185	0,0489 (26,5)	0,101 - 0,267
CL_{EMAX}	-0,316	0,0321 (10,2)	-0,377 - -0,275
CL_{T50}	1,40E+03	73,7 (5,27)	1,27E+03 - 1,52E+03
CL_{HILL}	2,78	0,512 (18,4)	2,06 - 3,78
CL_{RAAA}	0,0573	0,0396 (69,1)	-0,0066 - 0,122
CL_{RAAS}	-0,0766	0,0258 (33,7)	-0,121 - -0,0356
CL_{CHL}	-0,321	0,0272 (8,47)	-0,366 - -0,275
KA	0,0127	0,00121 (9,52)	0,0108 - 0,0151
F1	0,676	0,0430 (6,36)	0,60 - 0,75

Случайные эффекты			
ω2CL [-]	0,112 (0,335)	0,00560 (5,00)	0,102 - 0,120
ω2VC [-]	0,127 (0,356)	0,0138 (10,9)	0,102- 0,150
ω2VP [-]	0,231 (0,480)	0,0245 (10,6)	0,194 - 0,282
ω2EMAX [h]	0,0504 (0,224)	0,00893 (17,7)	0,0379 - 0,0664
ω2KA	0,172 (0,414)	0,0634 (36,9)	0,070 - 0,262
ω2F1	0,625 (0,791)	0,239 (38,2)	0,230 - 1,046
ω2CL: ω2VC	0,0354 (0,297)	0,00347 (9,80)	0,0294 - 0,0419
ω2KA:F1	0,253 (0,773)	0,0684 (27,0)	0,127 - 0,360
Остаточная ошибка			
Пропорциональная Ошибка[f]	0,205	0,00512 (2,50)	0,196 – 0,213

[a] Параметры с фиксированными значениями (не оцененные) обозначаются верхним индексом «*f*» после названий, при этом фиксированное значение указывается в столбце «Оценка». [b] Названия параметров случайных эффектов и остаточной ошибки, содержащие двоеточие (:),

обозначают коррелированные параметры. [c]Оценки параметров случайных эффектов и остаточной ошибки показаны как дисперсия (стандартное отклонение). для диагональных элементов (ωi,i или σi,i) и ковариация (корреляция) для недиагональных элементов (ωi,i или σi,i). [d] RSE% — относительная стандартная ошибка (стандартная ошибка в процентах от оценки). [e] Доверительные интервалы параметров случайных эффектов и остаточной ошибки относятся к дисперсии или ковариации. Значения доверительного интервала [BS] взяты из расчетов начальной загрузки (934 успешных из общего числа 1000).

[0789] Структурная РК-модель состояла из 2 частей: абсорбция нулевого порядка при IV введении и абсорбция первого порядка при SC введении. Определенное моделью значение BA ниволумаба составило 67% с высокой точностью (95% ДИ: 60% - 75%). Для РК-характеристики SC ниволумаба и оптимизации подбора дозы SC ниволумаба был использован способ моделирования и имитации PPK. Целью данного анализа, основанного на моделировании, было построение PPK-модели, которая описывает данные о концентрации ниволумаба при введении как подкожно, так и внутривенно. Данные о концентрации ниволумаба после введения первой SC дозы в рамках текущего испытания (части A и B) были получены от 29 испытуемых в двух уровнях дозы, включая 720 мг SC ниволумаба + rHuPH20 (часть A - группа 1) и 960 мг SC ниволумаба + rHuPH20 (часть B - группа 3). Полученные данные по концентрации при SC введении были объединены с существующими данными по концентрации при IV введении, чтобы разработать объединенную PPK-модель при SC/IV введении для ниволумаба. Компонент внесосудистой абсорбции был добавлен к существующей PPK-модели для внутривенного введения, после чего были оценены соответствующие параметры абсорбции, включая BA (F1) и константу скорости абсорбции (ka). Оценки РК-параметров, полученные с помощью объединенной модели SC/IV, обобщены в таблице 55.

[0790] Структурная РК-модель состояла из 2 частей: абсорбция нулевого порядка при IV введении и абсорбция первого порядка при SC введении. Определенное моделью значение BA ниволумаба составило 67% с высокой точностью (95% ДИ (доверительный интервал): 60% - 75%). Для РК-характеристики SC ниволумаба и оптимизации подбора дозы SC ниволумаба был использован способ PPK моделирования и имитации. Целью данного анализа, основанного на моделировании, было построение PPK-модели, которая описывает данные о концентрации ниволумаба при введении как подкожно, так и внутривенно. Данные о концентрации ниволумаба после введения первой SC дозы в рамках текущего испытания (части A и B) были получены от 29 испытуемых в двух уровнях дозы, включая 720 мг SC ниволумаба +

rHuPH20 (часть A - группа 1) и 960 мг SC ниволумаба + rHuPH20 (часть B - группа 3). Полученные данные по концентрации при SC введении были объединены с существующими данными по концентрации при IV введении, чтобы разработать объединенную PPK-модель при SC/IV введении для ниволумаба. Компонент внесосудистой абсорбции был добавлен к существующей PPK-модели для IV введения, после чего были оценены соответствующие параметры абсорбции, включая BA (F1) и константу скорости абсорбции (ka). Оценки PK-параметров, полученные с помощью объединенной модели SC/IV, обобщены в таблице 55.

[0791] Структурная PK-модель состояла из 2 частей: абсорбция нулевого порядка при IV введении и абсорбция первого порядка при SC введении. Определенное моделью значение BA ниволумаба составило 67% с высокой точностью (95% ДИ: 60% - 75%).

[0792] Объединенная PPK-модель SC/IV прошла внутреннюю валидацию, чтобы убедиться, что модель способна предсказать наблюдаемые значения концентрации после SC введения. Визуальные прогностические проверки (ФИГ. 4) показали, что объединенная модель SC/IV адекватно отражает и описывает наблюдаемые данные о концентрации SC ниволумаба.

[0793] Используя модель, описанную выше, было проведено детерминистическое моделирование для получения показателей экспозиции для субъектов, получавших лечение с имеющимися PK-данными в CA2098KX. Сводные данные о мерах воздействия по уровням дозы приведены в таблице 56.

Таблица 56: Сводная информация о прогнозируемом воздействии на субъектов, получающих лечение, по уровню дозы

Доза SC Q4W	**Cavgd28 (мкг/мл) GeoMean (%CV)**	**Cmind28 (мкг/мл) GeoMean (%CV)**	**Cmax1 (мкг/мл) GeoMean (%CV)**	**Tmax1 (часы) Среднее (SD)**
720 мг (N=22)	36,9 (44,2)	22 (56,8)	51,3 (24,7)	141 (63,8)
960 мг (N=9)	61,8 (27,2)	40,6 (24,3)	83,5 (31,3)	136 (48)

Сокращения: Cavgd28 = средняя концентрация на 28-й день; Cmax1 = максимальная концентрация после первой дозы; Cmind28 = минимальная концентрация на 28-й день; CV = коэффициент вариации; GeoMean = среднее геометрическое; Q4W = каждые 4 недели; SC = подкожный; SD = стандартное отклонение; Tmax1 = время достижения максимальной концентрации в плазме крови после первой дозы.

[0794] **Одногрупповая расширенная когорта субъектов с диагнозом ПКР**

[0795] Испытание будет расширено за счет включения одногрупповой, с одиночной опухолью, расширенной когорты (часть E) с

распространенным/метастатическим ПКР (почечно-клеточным раком) (ФИГ. 3). Основной целью части E является демонстрация РК не меньшей эффективности ниволумаба при введении подкожно 1200 мг + rHuPH20 (совместный состав) Q4W по сравнению с IV введением (3 мг/кг Q2W) путем сравнения спрогнозированных моделью подкожных и внутривенных воздействий. Не меньшая эффективность определяется как нижний предел двустороннего 90%-го ДИ отношения среднего геометрического не менее 0,8 для меры воздействия (совместные первичные конечные точки: Cavgd28; Cmind28). Демонстрация не меньшей эффективности Cavgd28 и Cmind28 гарантирует, что эффективность вводимого подкожно ниволумаба Q4W будет поддерживаться на уровне, сравнимом с вводимым внутривенно ниволумабом в дозе 3 мг/кг Q2W.

[0796] Вторичными целями части E являются (i) оценка РК SC ниволумаба, со-ставленного с rHuPH20; (ii) оценка профиля безопасности SC ниволумаба, составленного с rHuPH20; (iii) оценка иммуногенности ниволумаба; и (iv) оценка ответа, оцененного исследователем. Вторичные конечные точки включают (i) Cmax1, AUC(TAU), Cavg(ss) и Cmin(ss); (ii) частоту случаев AE, SAE, AE, приведших к прекращению приема препарата, смертельным исходам и лабораторным отклонениям; (iii) частоту появления антител к ниволумабу и нейтрализующих антител, если применимо; и (iv) ORR (частоту объективного ответа). Исследовательские цели включают (i) изучение эффективности у всех участников; (ii) изучение биомаркеров иммунной функции, генетики и геномики опухоли; (iii) изучение иммуногенности rHuPH20; и (iv) изучение опыта участников в отношении SC ниволумаба. Исследовательские конечные точки включают (i) PFS (выживаемость без прогрессирования), OS (общую выживаемость), время до ответа и продолжительность ответа; (ii) изменение по сравнению с исходным уровнем различных биомаркеров и молекулярных характеристик опухоли/крови; (iii) частоту появления анти-rHuPH20 антител и нейтрализующих антител, если применимо; и (iv) анкету по опыту/предпочтениям пациентов и качественные интервью с пациентами.

[0797] Выбор ПКР в качестве типа опухоли для части E подкрепляется обширными историческими РК-данными и хорошо установленными моделями PPK и E-R для вводимого внутривенно ниволумаба в типе опухоли. Кривые E-R ниволумаба для эффективности и безопасности при ПКР были фиксированными в диапазоне доз от 1 мг/кг до 10 мг/кг (данные не показаны). Учитывая хорошо установленную фиксированную зависимость E-R в ПКР и меланоме в широком диапазоне испытанных

доз, оценка пользы/риска SC ниволумаба в части E может обоснованно поддерживать экстраполяцию на все типы опухолей, где внутривенно вводимый ниволумаб доказал свою безопасность и эффективность. Выбор 3 мг/кг IV Q2W в качестве виртуального варианта внутривенного лечения основан на: надежных данных о воздействии, эффективности и безопасности для 3 мг/кг IV Q2W. В большинстве исследований, включая основные исследования по всем утвержденным показаниям, ниволумаб оценивался в дозе 3 мг/кг IV Q2W. Поэтому для данной дозы имеются хорошо охарактеризованные профили эффективности, безопасности и ФК. Хорошо зарекомендовавшие себя исследования E-R в ПКР и меланоме, которые охватывают режим 3 мг/кг IV Q2W, не выявили значительной связи между экспозицией и безопасностью/эффективностью. Демонстрация РК неинферентности SC дозы по сравнению с дозой 3 мг/кг IV Q2W является достаточной для заключения о том, что профиль польза-риск SC ниволумаба будет сопоставим с ниволумабом, вводимым внутривенно, при распространенном/метастатическом ПКР и при экстраполяции на другие типы опухолей по следующим причинам:

[0798] Эффективность 3 мг/кг IV Q2W была продемонстрирована в исследованиях по определению дозы и поворотных исследованиях, проведенных на разных типах опухолей. Поэтому, если аналогичные или более высокие Cavgd28 и Cmind28 будут достигнуты при режиме дозирования подкожно 1200 мг Q4W, то ожидается, что профиль безопасности и эффективности SC ниволумаба будет сопоставим с вводимым внутривенно ниволумабом.

[0799] **Критерии включения/исключения/характеристики пациентов**

[0800] Основные критерии включения включают следующее: (i) наивная терапия PD-L1; (ii) гистологическое подтверждение ПКР с прозрачным клеточным компонентом (необходимо получить не менее 1, но не более 2 линий предшествующих системных схем лечения при распространенном или метастатическом заболевании и иметь доказательства прогрессирования во время или после последней полученной схемы лечения и в течение 6 месяцев до включения в исследование); (iii) для субъектов при вступлении в исследование запрашивается блок ткани опухоли, фиксированный в формалине и залитый парафином, или неокрашенные слайды образца опухоли (архивного или недавнего) для оценки биомаркеров; (iv) возраст участников мужского и женского пола должен составлять $\geq$ 12 лет или более на момент получения информированного согласия; (v) участникам должна быть проведена оценка экспрессии PD-L1 в опухоли способом иммуногистохимии (IHC); (vi) измеримая

болезнь в соответствии с критериями оценки ответа при солидных опухолях (RECIST) версии 1.1; (vii) участники должны иметь статус эффективности по ECOG 0 или 1; и (viii) все участники должны иметь возможность соблюдать требования к лечению, результатам, о которых сообщают пациенты, РК, сбору фармакодинамических образцов и последующему наблюдению за исследованием.

[0801] Основные критерии исключения включают следующее: (i) лечение растительными препаратами (например, травяными добавками или традиционными китайскими лекарствами) для лечения исследуемого заболевания в течение 2 недель до рандомизации/лечения; (ii) участники с активным аутоиммунным заболеванием или любым другим состоянием, требующим системного лечения кортикостероидами в течение 14 дней (> 10 мг в день в эквиваленте преднизона) или другими иммуносупрессивными препаратами в течение 30 дней после рандомизации (ингаляционные или местные стероиды, а также стероиды, замещающие надпочечники, в дозах > 10 мг в день в эквиваленте преднизона, разрешены при отсутствии активного аутоиммунного заболевания); (iii) участники с сахарным диабетом I типа, гипотиреозом, требующим только заместительной гормональной терапии, кожными заболеваниями (такими как витилиго, псориаз или алопеция), не требующими системного лечения, или состояниями, рецидив которых не ожидается при отсутствии внешнего провоцирующего фактора, допускаются к участию в исследовании; (iv) нелеченные симптоматические метастазы в центральной нервной системе (ЦНС) (пациенты допускаются к участию в программе, если метастазы в ЦНС протекают бессимптомно и не требуют немедленного лечения, или если они были пролечены и неврологическое состояние пациентов вернулось к исходному уровню (за исключением остаточных признаков или симптомов, связанных с лечением ЦНС); кроме того, пациенты должны были либо отказаться от кортикостероидов, либо принимать стабильную или снижающуюся дозу преднизона ≤ 10 мг в день (или эквивалентную) в течение как минимум 2 недель до начала участия в программе); (v) пациенты с известным вирусом иммунодефицита человека (ВИЧ), у которых в течение последнего года был синдром приобретенного иммунодефицита (СПИД), определяющий оппортунистическую инфекцию, или текущее количество кластера дифференцировки 4 (CD4) < 350 клеток/мл; (vi) неадекватная функция органов по результатам исходной лабораторной оценки; (vii) пациенты с сопутствующей злокачественной опухолью, требующей лечения (пациенты с ранее леченной злокачественной опухолью допускаются, если лечение было завершено не менее чем

за 2 года до регистрации и у пациента нет признаков заболевания; также допускаются пациенты с сопутствующей злокачественной опухолью, которая клинически стабильна и не требует лечения, направленного на опухоль); (viii) пациенты с серьезными или неконтролируемыми медицинскими расстройствами; (ix) серологические доказательства хронической инфекции вируса гепатита B (HBV) с вирусной нагрузкой HBV выше предела количественного определения. Участники с хронической инфекцией HBV должны проходить одновременную вирусную супрессивную терапию; (x) серологические доказательства текущей инфекции вируса гепатита C (HCV) с вирусной нагрузкой HCV выше предела количественного определения; (xi) участники, получившие живую/аттенуированную вакцину в течение 30 дней после первого лечения; (xii) история аллергии или гиперчувствительности к компонентам препарата исследования; и (xiii) предшествующее лечение анти-PD-1, анти-PD-L1, антицитотоксическим Т-лимфоцит-ассоциированным антигеном-4, (CTLA-4) антителом, или любым другим антителом или лекарством, специфически направленным на ко-стимуляцию Т-клеток или пути контрольных точек.

[0802] **Обоснование для выбора SC дозы**

[0803] Для подбора дозы SC ниволумаба был использован подход моделирования и имитации PPK. Данные о концентрации ниволумаба после введения первой SC дозы из частей A и B были собраны для двух уровней дозы, вводимых совместно с rHuPH20 (720 мг и 960 мг). Полученные данные были объединены с существующими данными по концентрации IV введения для разработки объединенной PPK-модели для ниволумаба в виде SC и IV введения. К существующей PPK-модели для IV введения был добавлен компонент внесосудистой абсорбции и затем были оценены соответствующие параметры абсорбции, включая BA и ka. Моделирование проводилось с использованием данной объединенной PPK-модели SC/IV для прогнозирования системной экспозиции после введения ряда доз при различной массе тела. В соответствии с различными сценариями, учитывающими потенциальную неопределенность в тестировании BA, было определено, что схема SC введения ниволумаба в дозе 1200 мг Q4W будет иметь сопоставимый профиль пользы-риска с режимом внутривенного введения ниволумаба в дозе 3 мг/кг Q2W. Данный факт был обоснован тем, что данный режим дозирования способен обеспечить уровни экспозиции Cavgd28 и Cmin28, аналогичные или превышающие уровни, связанные с ниволумабом IV 3 мг/кг Q2W, при сохранении всех показателей экспозиции ниже уровней, связанных с ниволумабом IV 10 мг/кг Q2W при любой массе тела. Кроме

того, моделирование клинических испытаний по наиболее консервативному сценарию (низкая биодоступность, в популяции больных ПКР, имеющих тенденцию к увеличению массы тела) позволяет предположить, что вероятность достижения критериев неидеальности при сравнении ниволумаба SC 1200 мг Q4W с ниволумабом IV 960 мг Q4W относительно выше в исследовании SC против IV.

[0804] Что касается ожидаемого профиля безопасности при применении SC дозы 1200 мг, прогнозируемые экспозиции не должно превышать воздействие ниволумаба 10 мг/кг Q2W внутривенно, дозы, безопасность которой была хорошо описана и показана как аналогичная дозе 3 мг/кг Q2W внутривенно. Учитывая, что не было клинически значимых различий в частоте возникновения AE между дозами 3 мг/кг и 10 мг/кг Q2W внутривенно, доза 1200 мг + rHuPH20 Q4W подкожно является подходящей дозой, которая обеспечит дозу, равную или превышающую дозу 3 мг/кг Q2W внутривенно и не превышающую дозу 10 мг/кг Q2W внутривенно. Это будет оценено в рамках поправки, проводимой для характеристики фактической PK для SC дозы 1200 мг (части C и D), и предварительные результаты будут рассмотрены до начала части E.

[0805] Дальнейшие сравнения экспозиций, полученные из детерминированного моделирования для пациентов из групп A и B, были проведены для того, чтобы установить, существуют ли какие-либо различия в экспозициях SC дозы ниволумаба 1200 мг Q4W относительно 3 мг/кг Q2W на основе типа опухоли. В данных симуляциях учитывались отдельные параметры абсорбции, биодоступности, системные PK-параметры и индивидуальная информация о ковариатах. По всем типам опухолей, собранных в данном исследовании, не было выявлено явных тенденций или различий в среднегеометрических соотношениях (geometric mean ratios (GMR)) для всех показателей воздействия. Все GMR, равные или превышающие 1, указывают на то, что тип опухоли вряд ли повлияет на интерпретацию неидеального воздействия, и масса тела будет по-прежнему вносить основной вклад в любые различия в экспозициях при дозировке SC 1200 мг Q4W и 3 мг/кг Q2W IV (ФИГ. 5A-5C).

Пример 3 – Подкожное введение ниволумаба с rHuPH20 или без нее

[0806] В поддержку клинических исследований с подкожным (SC) введением ниволумаба было проведено неклиническое исследование на яванских макаках для оценки местной переносимости и системных экспозиций ниволумаба при двукратном введении (с интервалом в 3 недели) в виде SC состава с rHuPH20 и без нее. Ниволумаб для SC введения поставлялся в концентрации 154,57 мг/мл и вводился путем SC

инъекции в дозах 0 мг/кг (носитель), 50 мг/кг (без rHuPH20) или 50 мг/кг (с rHuPH20, 2000 Ед/мл), дважды (дни 1 и 22/20 [самцы/самки]), группам по 3 обезьяны каждого пола. Все дозы вводились из расчета 0,5 мл/кг в растворителе/носителе, состоящем из 20 мМ гистидина, 250 мМ сахарозы, 0,05% полисорбата-80 и 50 мкМ пентетовой кислоты (гистидиновый буфер). Образцы для токсикокинетического анализа были собраны после дозирования в день 1, и плановые некропсии проводились через 72 часа после дозирования в день 22/21 (самцы/самки).

[0807] Средние системные экспозиции ниволумаба (AUC[0-T]) при дозе 50 мг/кг с rHuPH20 были в целом схожи с таковыми без rHuPH20 (таблица 57). Среднее время достижения максимальной концентрации в плазме (Tmax) составило 32 часа или 68 часов после приема дозы с rHuPH20 или без нее, соответственно. Полученные результаты показывают, что, несмотря на более раннее Tmax при совместном приеме rHuPH20, rHuPH20 не оказала существенного влияния на общую системную экспозицию ниволумаба в данном неклиническом исследовании.

Таблица 57: Токсикокинетическая сводка - средние значения, объединенные по полу

Параметр	**Все обезьяны/исключение обезьян с выявляемыми при лечении антителами против ниволумаба**[a]	
	Ниволумаб 50 мг/кг (без rHuPH20)	**Ниволумаб 50 мг/кг (с rHuPH20)**
AUC (0-T) (мкг x ч/мл)	187,000/166,000	184,000/182,000
Cmax (мкг/мл)	537/454	647/647
Тмакс (ч)	68/60	32/24

Сокращения: AUC = площадь под кривой зависимости концентрации от времени; Cmax = максимальная концентрация; Тмакс = время до максимальной концентрации в плазме. [a]Величины были рассчитаны с учетом всех обезьян/за исключением обезьян с выявляемыми при лечении антителами против ниволумаба.

[0808] Антилекарственные антитела (anti-drug antibodies (ADA)) к ниволумабу, возникшие в результате лечения, были обнаружены у 1 из 6 обезьян с rHuPH20 или без нее. Однако, в целом, наличие ADA, возникающих при лечении, не оказывало существенного влияния на воздействие ниволумаба.

[0809] Ниволумаб, вводимый в дозе 50 мг/кг с rHuPH20 (2000 Ед/мл) и без нее, хорошо переносился без клинических наблюдений и проблем с местной переносимостью в местах SC введения, и в данном неклиническом исследовании не

было значимых различий в воздействии ниволумаба в присутствии или отсутствии rHuPH20.

Пример 3. Подкожное введение ниволумаба в комбинации с рекомбинантной гиалуронидазой человека при ранее леченном прогрессирующем, рецидивирующем или метастатическом немелкоклеточном раке легкого.

[0810] Будет проведено исследование фазы 3 для оценки применения подкожного (subcutaneous (SC)) ниволумаба, составленного с рекомбинантной человеческой PH20 (rHuPH20), в сравнении с внутривенным (intravenous (IV) ниволумабом у участников с ранее леченным прогрессирующем, рецидивирующим или метастатическим немелкоклеточным раком легкого (НМРЛ). Целью данного исследования является установить фармакокинетические (PK) показатели и эффективность, не имеющие противопоказаний, для дозы в 1200 мг ниволумаба, совместно приготовленного вместе с 20000 ЕД rHuPH20, вводимого подкожно каждые 4 недели (Q4W), в сравнении с 3 мг/кг ниволумаба, вводимого внутривенно каждые 2 недели (Q2W). На протяжении всего протокола совместно приготовленный состав ниволумаба и rHuPH20 будет называться SC ниволумаб и состав ниволумаба, вводимый внутривенно, будет называться IV ниволумаб.

[0811] Мужчины или женщины 18 лет и старше (или возраст совершеннолетия по месту жительства) с гистологически подтвержденной стадией IIIB/IIIC/IV НМРЛ (сквамозной или несквамозной), у которых произошел рецидив или прогрессирование заболевания во время или после 1 предшествующей системной терапии по поводу распространенного или метастатического заболевания. Цели и конечные точки приведены в таблице 58.

Таблица 58: Цели и конечные точки

Цель	Конечная точка
Совместная основная	
• Продемонстрировать фармакокинетическое преимущество SC ниволумаба в дозе 1200 мг Q4W по сравнению с ниволумабом в дозе 3 мг/кг Q2W.	• Cmind28
• Продемонстрировать, что ORR для SC ниволумаба в дозе 1200 мг Q4W не уступает в сравнении с IV ниволумабом в дозе 3 мг/кг Q2W.	• ORR по данным BICR с последующим наблюдением не менее 6 месяцев
Вторичная	

• Оценить фармакокинетику SC ниволумаба в дозе 1200 мг Q4W и IV ниволумаба в дозе 3 мг/кг Q2W.	• Cavgd28, Cmax1, Tmax, Cminss, Cavgss
• Оценить эффективность SC ниволумаба в дозе 1200 мг Q4W и IV ниволумаба в дозе 3 мг/кг Q2W.	1) ORR по данным BICR с последующим наблюдением не менее 12 месяцев и в конце исследования 2) DCR по данным BICR с последующим наблюдением не менее 6 и 12 месяцев и в конце исследования 3) PFS с последующим наблюдением не менее 6 и 12 месяцев и в конце исследования 4) OS с последующим наблюдением не менее 6 и 12 месяцев и в конце исследования 5) DoR с последующим наблюдением не менее 6 и 12 месяцев и в конце исследования 6) TTR с последующим наблюдением не менее 6 и 12 месяцев и в конце исследования
• Оценить профиль безопасности SC ниволумаба и IV ниволумаба.	7) Случаи AE, SAE, AE, приведшие к прекращению исследования, смертельным исходам и лабораторным отклонениям
• Оценить AE по широкому стандартизированному запросу MedDRA (SMQ) "Анафилактическая реакция", в группе SC ниволумаба и в группах IV ниволумаба.	• Частота анафилактических реакций, гиперчувствительности и системных инфузионных реакций. • Частота реакций на инъекции и местных реакций в месте инфузии, возникающих в течение 2 дней после введения исследуемого лекарственного вещества.
• Оценить иммуногенность SC ниволумаба и IV ниволумаба	• Процент участников, у которых вырабатываются антитела против ниволумаба и нейтрализующие антитела, если применимо
Исследовательская	
• Изучить трансляционные биомаркеры клинической активности SC ниволумаба и IV ниволумаба	• Суммарные показатели изменения (или % изменения) по сравнению с исходным уровнем внутриопухолевых маркеров воспаления опухоли • Суммарные показатели изменения (или % изменения) по сравнению с исходным уровнем периферических маркеров иммунной активации • Суммарные измерения исходных уровней внутриопухолевых и периферических биомаркеров в обеих группах лечения для выявления потенциальных дисбалансов

• Изучить иммуногенность rHuPH20	• Процент участников, у которых вырабатываются антитела против rHuPH20 и нейтрализующие антитела, если применимо, и влияние антител против rHuPH20 на AE, реакции, связанные с введением, и события в рамках анафилактических реакций по MedDRA SMQ
• Изучить влияние иммуногенности SC ниволумаба и IV ниволумаба	• Процент участников, у которых вырабатываются антитела против ниволумаба и нейтрализующие антитела, если применимо, влияние антител против ниволумаба на AE, реакции, связанные с введением, и события в рамках анафилактических реакций по MedDRA SMQ
• Изучить опыт и предпочтения участников в отношении SC ниволумаба	• Процент участников, предпочитающих SC лечение, и процент участников, предпочитающих IV лечение посредством PEPQ (только группа A, SC ниволумаб)
• Изучить изменения в симптомах, связанных с заболеванием, и влияние на качество жизни, связанное со здоровьем, в группах SC и IV	• Средние баллы по шкале HMPЛ-SAQ на исходном уровне и изменения баллов после исходного уровня
• Изучить изменения состояния здоровья и связанного со здоровьем качества жизни в группах SC и IV	• Средние показатели полезности EQ-5D-5L и визуальной аналоговой шкалы и изменения показателей после исходного уровня

Сокращения: AE = нежелательное явление; BICR = слепой независимый центральный обзор; CminD28 = минимальная концентрация в сыворотке за 28 дней; Cavgd28 = средняя концентрация в сыворотке на 28-й день; Cmax1 = максимальная концентрация в сыворотке после первой дозы; Cminss = устойчивая концентрация; Cavgss = устойчивая средняя сывороточная концентрация; DCR = показатель контроля заболевания; DoR = продолжительность ответа; IV = внутривенно; MedDRA = медицинский словарь для регуляторной деятельности; ORR = объективная частота ответа; OS = общая выживаемость; PFS = выживаемость без прогрессирования; PK = фармакокинетика; Q2W = каждые 2 недели; Q4W = каждые 4 недели; rHuPH20 = рекомбинантная человеческая гиалуронидаза PH20; SAE = серьезное нежелательное явление; SC = подкожно; SMQ = стандартизированные запросы MedDRA; Tmax = время достижения Cmax1; TTR = время до ответа.

[0812] **Общий дизайн**

[0813] Настоящее исследование представляет собой многоцентровое, рандомизированное, открытое исследование фазы 3, в котором будет оцениваться фармакокинетика (PK) и не меньшая эффективность SC ниволумаба по сравнению с IV ниволумабом, и безопасность и переносимость SC ниволумаба у участников с

распространенным, рецидивирующим или метастатическим НМРЛ.

- Группа A (n=257): SC ниволумаб в совместном приготовлении 1200 мг ниволумаба с 20000 единиц rHuPH20 4 раза в день ± 7 дней; и
- Группа B (n=257): IV ниволумаб в дозе 3 мг/кг Q2W ± 3 дня (ФИГ. 6).

[0814] Приблизительно всего 514 участников будут рандомизированы в соотношении 1:1 в следующие группы лечения: рандомизация в группы лечения будет стратифицирована по гистологии (сквамозная против несквамозной), показателю PD-L1 (≥1% против < 1% против неопределенного), массе (<65 кг против 65-90 кг против >90 кг) и статусу эффективности по шкале Восточной кооперативной онкологической группы (Eastern Cooperative Oncology Group performance status) ECOG-PS (0 против 1) (ФИГ. 6). Оценка по шкале ECOG PS должна быть проведена в течение 14 дней до рандомизации. Дозирование в данном исследовании будет продолжаться до прогрессирования заболевания согласно критериям оценки ответа при солидных опухолях (Response Evaluation Criteria in Solid Tumors (RECIST)) v.1.1, неприемлемой токсичности, отзыва согласия, завершения 104 недель лечения, смерти или прекращения исследования спонсором, в зависимости от того, что произойдет раньше.

[0815] Оценка опухоли в ходе исследования должна состоять из КТ грудной клетки с контрастным усилением, КТ/МРТ брюшной полости, таза и всех других известных и/или предполагаемых очагов заболевания и проводиться каждые 8 недель (± 7 дней), начиная с рандомизации, в течение 2 лет (104 недели), затем каждые 12 недель (± 7 дней) до прогрессирования заболевания и прекращения лечения (включая лечение после прогрессирования), в зависимости от того, что произойдет позже. Частичный ответ (ЧО) и полный ответ (ПО) должны быть оценены и подтверждены не менее чем через 4 недели после первоначальной оценки. Опухолевый ответ будет оцениваться с помощью RECIST 1.1.

[0816] Серийные образцы крови будут собираться во время цикла 1 в группе A и во время циклов 1 и 2 в группе B, а также преддозовые РК-образцы в течение всего периода лечения в группах A и B для характеристики РК и иммуногенности ниволумаба.

[0817] Мониторинг безопасности будет состоять из физических осмотров, измерения жизненно важных показателей и клинических лабораторных исследований в определенные периоды времени в течение всего интервала дозирования. Участники будут находиться под тщательным наблюдением на предмет АЕ на протяжении всего исследования. Сбор АЕ и степень их тяжести в соответствии с критериями Общих

терминологических критериев неблагоприятных событий Национального института рака (National Cancer Institute Common Terminology Criteria for Adverse Events (NCI CTCAE)) v.5 будет также включать местные реакции в месте инъекции после SC введения и реакции, связанные с IV инфузией.

[0818] **Обоснование дозы**

[0819] Для характеристики профиля всасывания ниволумаба при SC введении использовались PK-данные участников, включенных в исследование, где ниволумаб (720 мг, 960 мг и 1200 мг) вводился подкожно с rHuPH20 или без нее, и исторические данные внутривенного введения препарата при нескольких типах опухолей (данные от приблизительно 3000 пациентов). Популяционный PK-анализ (PPK) оценил среднюю (90% ДИ) биодоступность в 70% (66-74%) и скорость абсорбции первого порядка в 0,250 (90% ДИ : 0,225-0,274) день$^{-1}$. Все другие PK-параметры и влияние ковариатов на данные параметры соответствовали параметрам, оцененным ранее с помощью PPK-модели IV. Оцененные в модели экспозиции при применении SC ниволумаба в дозе 1200 мг Q4W и IV ниволумаба в дозе 3 мг/кг Q2W приведены в таблице 59. На основании данных результатов ожидается, что доза SC ниволумаба 1200 мг Q4W обеспечит аналогичное или более высокое воздействие во всех диапазонах массы тела по сравнению с дозой IV ниволумаба 3 мг/кг Q2W. Кроме того, среднее геометрическое воздействия ниволумаба, вводимого подкожно в дозе 1200 мг Q4W, ниже, чем воздействие от самой высокой допустимой дозы IV введения 10 мг/кг Q2W, и считается безопасным (ФИГ. 7).

Таблица 59: Рассчитанные по модели значения экспозиции для SC ниволумаба (с rHUPH20) и IV ниволумаба

	Среднее геометрическое (%CV)		
Доза	**Cavgd28 (мкг/мл)**	**Cmind28 (мкг/мл)**	**Cmax1 (мкг/мл)**
1200 мг Q4W SC	65,50 (35,10)	40,40 (41,50%)	93,00 (38,10%)
3 мг/кг Q4W IV	40,20 (29,40%)	27,40 (35,20%)	57,80 (37,70%)

Сокращения: Cavgd28 = средняя концентрация в сыворотке на 28-й день; Cmax1 = максимальная концентрация в сыворотке после первой дозы; Cmind28 = минимальная концентрация в сыворотке на 28-й день; CV = коэффициент вариации; IV = внутривенно; Q4W = каждые 4 недели; Q2W = каждые 2 недели; SC = подкожный.

[0820] **Критерии включения**

[0821] Участники должны иметь гистологически подтвержденный НМРЛ (сквамозный или несквамозный) и иметь IIIB/IIIC/IV стадию заболевания (согласно 8-й версии Руководства по стадированию рака легких в торакальной онкологии

Международной ассоциации по изучению рака легких) или рецидивирующее или прогрессирующее заболевание (согласно критериям RECIST 1.1) после мультимодальной терапии (лучевая терапия, хирургическая резекция или окончательная химиолучевая терапия при местно-распространенном заболевании). Участники должны иметь измеримую болезнь по результатам КТ или МРТ в соответствии с критериями RECIST 1.1 в течение 28 дней до первой дозы лечения. Участники должны иметь статус эффективности по ECOG 0 или 1, оцененный в течение 14 дней после рандомизации. Участники должны иметь рецидив или прогрессирование заболевания во время или после 1 предшествующей системной терапии по поводу распространенного или метастатического заболевания.

[0822] Поддерживающая терапия после двухкомпонентной химиотерапии на основе платины не рассматривается как отдельная линия терапии. Участники, получавшие пеметрексед, бевацизумаб или эрлотиниб в качестве поддерживающей терапии (непрогрессирующие после двухкомпонентной химиотерапии на основе платины) и прогрессировавшие, имеют право на участие. Участники, получившие адъювантную или неоадъювантную двухкомпонентную химиотерапию на основе платины (после операции и/или лучевой терапии), и у которых развился рецидив или метастатическое заболевание в течение 6 месяцев после завершения терапии, имеют право на участие. Участники с рецидивом заболевания через 6 месяцев после адъювантной или неоадъювантной химиотерапии на основе платины, которые также впоследствии прогрессировали во время или после двухкомпонентной химиотерапевтической схемы лечения на основе платины, назначенной для лечения рецидивов, имеют право на участие.

[0823] Все участники с несквамозной гистологией должны быть протестированы на статус мутации EGFR (включая, но не ограничиваясь этим, делеции в экзоне 19 и замену [L858R] в экзоне 21)); настоятельно рекомендуется использовать одобренный регулирующими органами тест. Участники с положительным результатом на сенсибилизирующие мутации EGFR должны иметь прогрессирующее заболевание после получения одного предшествующего одобренного ингибитора EGFR. Участники с несквамозной гистологией, у которых известна транслокация ALK, должны иметь прогрессирующее заболевание после получения одного предшествующего одобренного ингибитора ALK. Тестирование на мутацию ALK для данного исследования не требуется.

[0824] Участникам с симптоматическим поражением опухоли на исходном

уровне, которым может потребоваться паллиативная радиотерапия в течение 4 недель после получения первой дозы исследуемого лечения, настоятельно рекомендуется пройти паллиативную радиотерапию до включения в исследование. Паллиативная лучевая терапия должна быть завершена за 2 недели до введения первой дозы. Целевые поражения могут быть расположены в ранее облученном поле, если в данном месте имеется документированное (радиографическое) прогрессирование заболевания (в соответствии с критериями RECIST 1.1).

[0825] К участию допускаются участники с хроническим обструктивным заболеванием легких (ХОЗЛ), которое контролируется на момент начала исследования.

[0826] Блок опухолевой ткани, фиксированный формалином и залитый парафином (formalin fixed, paraffin-embedded (FFPE)), или не менее 20 неокрашенных слайдов опухолевой ткани, полученной в результате сердцевинной биопсии, пункционной биопсии, эксцизионной биопсии или хирургического образца до зачисления в программу (в течение 12 недель после зачисления) без предшествующего системного противоракового лечения между моментом получения и рандомизацией лечения в IRT. Если, несмотря на все усилия, не удается получить не менее 20 слайдов, в некоторых случаях после обсуждения с медицинским наблюдателем или уполномоченным лицом может быть принято решение о представлении меньшего количества слайдов. Если опухолевая ткань, полученная в течение 12 недель после зачисления, недоступна, можно представить архивный блок ткани (в течение приблизительно 12 месяцев после зачисления) без предшествующего системного противоракового лечения между моментом получения и рандомизацией лечения в IRT. Тонкоигольные аспираты и другие цитологические образцы неприемлемы. Оценка экспрессии PD-L1 в опухолевых клетках способом IHC должна быть выполнена анализирующей лабораторией с использованием образца ткани до лечения. Анализирующая лаборатория должна предоставить IRT результаты исследования PD-L1 до рандомизации.

[0827] **Критерии исключения**

[0828] Участники с активным аутоиммунным заболеванием или любым другим состоянием, требующим системного лечения кортикостероидами в течение 14 дней (> 10 мг в день в эквиваленте преднизона) или другими иммуносупрессивными препаратами в течение 30 дней после рандомизации. Ингаляционные или топические стероиды и стероидные препараты для замещения надпочечников в дозах > 10 мг в

день в эквиваленте преднизона разрешены при отсутствии активного аутоиммунного заболевания. Известная история положительного теста на вирус иммунодефицита человека (ВИЧ) или известный синдром приобретенного иммунодефицита (СПИД).

[0829] Участники с сахарным диабетом I типа, гипотиреозом, требующим только замены гормонов, кожными заболеваниями (такими как витилиго, псориаз или алопеция), не требующими системного лечения, или состояниями, при которых не ожидается рецидива в отсутствие внешнего триггера, допускаются к участию в исследовании.

[0830] Участники с нелеченными симптоматическими метастазами в ЦНС. Участники допускаются к участию, если метастазы в ЦНС протекают бессимптомно и не требуют немедленного лечения, или если они были пролечены и неврологическое состояние пациентов вернулось к исходному уровню (за исключением остаточных признаков или симптомов, связанных с лечением ЦНС). Кроме того, участники должны были либо не принимать кортикостероиды, либо принимать стабильную или снижающуюся дозу преднизона $\leq$ 10 мг в день (или эквивалентную) в течение как минимум 2 недель до регистрации.

[0831] Участники с сопутствующей злокачественной опухолью, требующей лечения. Участники с ранее леченной злокачественной опухолью могут быть допущены, если лечение было завершено не менее чем за 2 года до рандомизации и у пациента нет признаков заболевания. Пациенты с сопутствующей злокачественной опухолью, которая клинически стабильна и не требует лечения, направленного на лечение опухоли, также могут быть допущены к участию.

[0832] Участники с интерстициальным заболеванием легких, которое является симптоматическим или может помешать выявлению или лечению предполагаемой легочной токсичности, связанной с препаратом.

[0833] Участники, получавшие лечение ботаническими препаратами (например, травяными добавками или традиционными китайскими лекарствами) для лечения исследуемого заболевания в течение 2 недель до рандомизации/лечения. Участники, получившие живую/аттенуированную вакцину в течение 30 дней после первого лечения. Участники, ранее получавшие лечение анти-PD-1, анти-PD-L1, анти-CTLA 4 антителом или любым другим антителом или лекарственным средством, специально нацеленным на костимуляцию Т-клеток или пути контрольных точек.

[0834] Недостаточная функция органов, основанная на исходных лабораторных оценках, включает (i) лейкоциты (WBC) < 2000/мкл; (ii) нейтрофилы <

1500/мкл; (iii) тромбоциты < 100 x103/мкл; (iv) гемоглобин < 9,0 г/дл; (v) сывороточный креатинин > 1.5 x верхней границы нормы (ULN), если только клиренс креатинина не ≥ 40 мл/мин (измеренный или рассчитанный по формуле Кокрофта-Голта); (vi) аспартатаминотрансфераза (AST)/ аланинаминотрансфераза (ALT): > 3.0 x ULN; (vii) общий билирубин > 1,5 x ULN (за исключением участников с синдромом Жильбера, у которых уровень общего билирубина должен быть < 3,0x ULN); и (viii) любой положительный результат теста на HBV или HCV, указывающий на наличие вируса, например, положительный поверхностный антиген гепатита B (HBsAg, австралийский антиген) или положительное антитело к гепатиту C (анти-HCV) (за исключением случаев, когда HCV-RNA отрицательный).

[0835] Подкожное введение ниволумаба с rHuPH20 (Группа A)

[0836] SC ниволумаб следует вводить в день 1 каждого цикла лечения каждые 4 недели ± 7 дней до прогрессирования, неприемлемой токсичности, отзыва согласия, завершения 104 недель (2 лет) лечения, смерти или окончания исследования, в зависимости от того, что произойдет раньше. Участники должны начать лечение в течение 3 календарных дней после рандомизации.

[0837] Повышение или снижение дозы ниволумаба не допускается. В циклах Q4W участники могут получать дозу не менее чем через 25 дней от предыдущей дозы. Для первой дозы ниволумаба премедикация не рекомендуется.

[0838] Дозы ниволумаба могут быть прерваны, отложены или прекращены в зависимости от того, насколько хорошо участник переносит лечение. Визиты для дозирования не пропускаются, а только откладываются.

[0839] SC ниволумаб вводится путем ручной инъекции в один из квадрантов живота в течение первого цикла. Для последующих циклов можно использовать один из четырех квадрантов живота и любое бедро, и места инъекций следует чередовать. Подкожное введение должно происходить как можно более стабильно (то есть без начала и остановки, с постоянной скоростью) в течение около 3-5 минут. Участники будут находиться под наблюдением в течение около 360 минут после SC ручных инъекций SC ниволумаба в день 1 цикла 1 и день 1 цикла 2. Участники, получающие последующие SC инъекции, могут находиться под наблюдением в течение приблизительно 30 минут после инъекции по клиническим показаниям и по усмотрению исследователя. Кроме того, со всеми участниками будут связываться приблизительно через 24 часа после каждой SC инъекции для сообщения о любых реакциях в месте инъекции. Место инъекции также будет оценено во время

следующего посещения исследования. Место SC инъекции, продолжительность и тип иглы должны быть зарегистрированы в электронной форме отчета о случае (electronic case report form (eCRF)). Инструкции по приготовлению дозы SC ниволумаба приведены в руководстве для фармацевтов.

Пример 4 - Подкожный ниволумаб с rHuPH20 или без rHuPH20

[0840] В текущем исследовании фазы 1/2 пациенты (pts), не принимающие ингибиторы контрольных точек, которые были ≥ 18 лет, ECOG PS 0-1, с метастатическими/нерезектабельными солидными опухолями и измеримой болезнью, получали различные дозы ниволумаба с rHuPH20 и без rHuPH20. Первичной целью было описание фармакокинетики (PK) подкожного ниволумаба; вторичными целями были безопасность и иммуногенность. В дополнительных анализах сравнивались воздействия с историческим IV ниволумабом. В цикле 1 пациенты части A получали подкожно ниволумаб в дозе 720 мг + rHuPH20, и пациенты части B получали подкожно ниволумаб в дозе 720 мг, подкожно ниволумаб в дозе 960 мг + rHuPH20 или подкожно ниволумаб в дозе 960 мг. В течение циклов 2+ пациенты частей A и B получали внутривенно ниволумаб в дозе 480 мг каждые 4 недели (Q4W). Пациенты, продолжающие участие в исследовании, переходили на часть C, подкожно ниволумаб в дозе 1200 мг + rHuPH20 до окончания терапии. В части D пациенты получали de novo подкожно ниволумаб в дозе 1200 мг + rHuPH20 Q4W. Подкожная инъекция представляла собой однократную инъекцию в живот или бедро.

[0841] Характеристики пациентов варьировались в зависимости от возраста, массы, типа опухоли и предшествующего лечения. Исходные демографические данные и характеристики заболевания для частей C и D показаны в таблице 60. Типы опухолей в части A включали немелкоклеточный рак легких (НМРЛ), почечно-клеточную карциному (ПКР), меланому (Mel), гепатоцеллюлярную карциному (ГЦК) и микросателлитную нестабильность высокой степени / колоректальный рак с дефицитом репарации несоответствия (MSI-H / dMMR CRC).

Таблица 60: Базовые демографические показатели / характеристики заболеваний для частей C и D

	Пациенты части C, перешедшие на SC лечение (1200 мг + rHuPH20 при первоначальном назначении лечения)					Часть D (1200 мг + rHuPH20) N = 36
	Группа 1 n = 9	Группа 2 n = 6	Группа 3 n = 5	Группа 4 n = 8	Всего N = 28	
Возраст, годы						

Среднее	70,7	65,3	65,2	69,3	68,1	64,6
Медиана (диапазон)	71,0 (52-90)	64,0 (53-80)	66,0 (60-70)	69,0 (58-80)	67,5 (52-90)	69,0 (24-93)
Возраст категория, n (%)						
< 65	2 (22,2)	3 (50,0)	2 (40,0)	2 (25,0)	9 (32,1)	14 (38,9)
≥ 65 до < 75	4 (44,4)	1 (16,7)	3 (60,0)	4 (50,0)	12 (42,9)	17 (47,2)
≥75	3 (33,3)	2 (33,3)	0	2 (25,0)	7 (25,0)	5 (13,9)
Пол, n (%)						
Мужской	3 (33,3)	5 (83,3)	2 (40,0)	6 (75,0)	16 (57,1)	26 (72,2)
женский	6 (66,7)	1 (16,7)	3 (60,0)	2 (25,0)	12 (42,9)	10 (27/8)
ECOG PS, n (%)						
0	6 (66,7)	5 (83,3)	2 (40,0)	2 (25,0)	15 (53,6)	12 (33,3)
1	3 (33,3)	1 (16,7)	3 (60,0)	6 (75,0)	13 (46,4)	24 (66,7)
Масса,[кг]						
Среднее	77,1	70,2	60,6	75,9	72,3	80,4
Медиана (диапазон)	72,7 (66-97)	69,5 (63-78)	60,0 (50-71)	73,3 (66-94)	71,6 (50-97)	80,7 (48-133)
Типы опухолей, n (%)						
НМРЛ	3 (33,3)	0	2 (40,0)	2 (25,0)	7 (25,0)	11 (30,6)
ПКР	2 (22,2)	0	2 (40,0)	1 (12,5)	5 (17,9)	9 (25,0)
MSI-H/dMMR CRC	2 (22,2)	3 (50,0)	1 (20,0)	2 (25,0)	8 (28,6)	7 (19,4)
ГЦК	1 (11,1)	3 (50,0)	0	3 (37,5)	7 (25,0)	6 (16,7)
Меланома	1 (11,1)	0	0	0	1 (3,6)	3 (8,3)
Регион, n (%)						
ЕС	1 (11,1)	5 (83,3)	3 (60,0)	6 (75,0)	15 (53,6)	14 (38,9)
Новая Зеландия	5 (55,6)	1 (16,7)	2 (40,0)	1 (12,5)	9 (32,1)	15 (41,7)
Южная Америка	0	0	0	1 (12,5)	1 (3,6)	7 (19,4)
Соединенные Штаты	3 (33,3)	0	0	0	3 (10,7)	0
Линии предшествующей терапии, n (%)						
0	2 (22,2)	0	1 (20,0)	1 (12,5)	4 (14,3)	8 (22,2)
1	5 (55,6)	3 (50,0)	2 (40,0)	5 (62,5)	15 (53,6)	26 (72,2)
2	2 (22,2)	2 (33,3)	0	2 (25,0)	6 (21,4)	1 (2,8)
≥ 3	0	1 (16,7)	2 (40,0)	0	3 (10,7)	1 (2,8)

[0842] Экспозиции ниволумаба увеличивались с увеличением вводимой подкожно дозы. (Таблица 61; ФИГ. 8A-8C). Для 960 мг и 1200 мг ниволумаба + rHuPH20, C_{avg} и C_{tau} были выше среднегеометрических экспозиций для IV ниволумаба в дозе 3 мг/кг каждые 2 недели (Q2W), и C_{max} была ниже IV ниволумаба в дозе 10 мг/кг Q2W. В части C (n = 28) у 13 (46,4%) пациентов наблюдались TRAE любой степени тяжести, при этом не было новых/ухудшающихся TRAE степени 3+ или TRAE, приведших к прекращению лечения/смерти; у 7 (25,0%) пациентов отмечались

местные реакции 1 степени тяжести. В части D (n = 36) у 27 (75,0%) пациентов наблюдались TRAE любой степени тяжести, 4 (11,1%) TRAE 3/4 степени, 2 (5,6%) серьезные TRAE 3/4 степени, одна из которых привела к прекращению лечения, и не было смертей, связанных с лечением; 10 (27,8%) сообщили о реакциях местного характера 1 степени. Антитела к ниволумабу (Ab) наблюдались при подкожном введении ниволумаба, но не были связаны с изменением РК/безопасности или нейтрализующими антителами. Один (4,5%) пациент из части A был признан стойко положительным на антитела к лекарственному препарату (anti-drug antibody (ADA)) (таблица 62). В части D только у 1 (3,8%) пациента титр положительных ADA достигал 8 титр-единиц. Нейтрализующих ADA выявлено не было, и не было доказательств изменения профиля РК при развитии ADA. Также не было выявлено связи развития антител против ниволумаба с отдельными АЕ (т.е. бронхоспазмом, гиперчувствительностью, реакциями, связанными с инфузией). Исследовательские данные по биомаркерам показали увеличение количества CD8+ опухоль-инфильтрирующих лимфоцитов и экспрессии PD-L1 в опухоли в биопсиях после лечения, аналогично IV ниволумабу.

Таблица 61: Экспозиции ниволумаба в зависимости от дозы с rHuPH20

Среднегеометрическая концентрация ниволумаба, мкг/мл (диапазон)	**C_{tau}**	**C_{avg}**	**C_{max}**	**T_{max}**
Ниволумаб 720 мг подкожно (n = 20[a])	22,2 (4,76–59,6)	36,6 (16,5–76,3)	54,8 (19,9–114)	144 (47,0-357)
Ниволумаб 960 мг подкожно (n = 9)	39,5 (06,08–67,6)	62,2 (26,8–93,3)	84,8 (42,7–128)	104 (47,2-168)
Ниволумаб 1200 мг подкожно (n = 25[b])	51,3 (18,4–96,5)	77,5(39,1–141)	105 (40,0–245)	118 (48,1-192)

[a] n = 22 для C_{max}; [b] n = 26 для C_{max}; C_{tau} = концентрация в конце интервала дозирования

Таблица 62. Оценки NIVO ADA: части A, B и D

Статус ADA пациента, n (%)	Часть A 720 мг + rHuPH20 n = 22	часть B			Часть D 1200 мг + pHuPH20 n = 26
		720 мг без rHuPH20 n=18	960 мг + pHuPH20 n = 10	960 мг без rHuPH20 n = 17	
Исходный ADA	2 (9,1)	0	2 (20,0)	0	1 (3,8)

положительный [a]					
ADA положительный	7 (31,8)	5 (27,8)	3 (30,0)	0	1 (3,8)
Стойкий положительный	1 (4,5)	0	0	0	0
Нестойкий положительный результат – последний образец положительный	0	3 (16,7)	0	0	0
Другие положительные	6 (27,3)	2 (11,1)	3 (30,0)	0	1 (3,8)
Нейтрализующие положительно	0	0	0	0	0
ADA отрицательный	15 (68,2)	13 (72,2)	7 (70,0)	17 (100,0)	25 (96,2)

[a]Исходные титры ADA во всех когортах ≤ 8 единиц титра.

[0843] Экспозиции, связанные с вводимыми подкожно дозами ниволумаба + rHuPH20, исследованными в настоящем исследовании, хорошо переносилось, и профиль безопасности соответствовал IV ниволумабу. Данные поддерживают оценку подкожного ниволумаба + rHuPH20 в исследовании фазы 3.

[0844] Средняя продолжительность подкожной инъекции ниволумаба составила менее 5 минут во всех группах лечения. Все пациенты частей C и D получили полную дозу для подкожного введения ниволумаба 1200 мг + rHuPH20 (22000 ЕД) путем однократной инъекции.

[0845] Парные биопсии до и во время лечения (C1D15) оценивали на экспрессию CD8 (n = 23) на опухоль-инфильтрирующих лимфоцитах (TIL) (ФИГ. 9A) и опухолевого PD-L1 (n = 25) (ФИГ. 9B) с помощью иммуногистохимии (IHC). Результаты иммуногистохимии для подкожно вводимого ниволумаба демонстрируют среднее изменение на 5,0% экспрессии CD8 TIL и на 2,8% экспрессии PD-L1 в опухоли, что свидетельствует о сходных фармакодинамических эффектах в микроокружении опухоли по сравнению с историческим внутривенным введением ниволумаба.

Пример 5 - Анализ окислительного стресса

[0846] В данном отчете мы оцениваем факторы, способствующие повышению стабильности как ниволумаба, так и rHuPH20 - двух очень разных белков на очень разных уровнях в их стабильном и активном состоянии при использовании одного состава. Для полного понимания влияния композиции состава было проведено три исследования.

[0847] Исследование 1- Изучение многочисленных условий окислительного стресса в отношении различной комбинации металла, пероксида и света в дополнение

к ускоренной стабильности. Исследование 2 - Исследование диапазонов концентраций, в которых наблюдается защита состава. Исследование 3 – Исследование дополнительных компонентов первичной упаковки, относящихся к предварительно заполненному шприцу и носимому устройству. В данном исследовании также тщательно изучалось влияние состава с/без rHuPH20.

[0848] Для оценки стабильности ниволумаба в основном использовалась эксклюзионная хроматография (size exclusion chromatography (SEC)), и для оценки стабильности измерялась активность фермента rHuPH20. Уровни PS80 и твердых частиц будут измерены в отдельных временных точках. В данном отчете показано, что добавление DTPA и Met сводит к минимуму риск окисления rHuPH20 и максимально стабилизирует ниволумаб.

[0849] **Дизайн исследования**

[0850] Исследование 1: Условия стресса

[0851] Исследование 1 было проведено для определения влияния различных окислительных стрессов в сочетании друг с другом. Изучались три окислительных стресса: свет [L] (1000 люкс при комнатной температуре), металлический стресс [M] (1,5 ppm всего, по 0,5 ppm железа, хрома и меди) и пероксид [P] (1 мМ пероксида). Три стресса оценивались по отдельности и в сочетании друг с другом. Предварительные данные показали, что ферментативная активность снижается при хранении RT/RL, поэтому световое воздействие в сочетании с другими стрессами [LP, LM, MPL] было ограничено до 3 дней (3D) при 1000 люкс при RT. Примечание: в данном исследовании воздействие светом [L] представляет собой единственное условие, при котором воздействие 1000 люкс при комнатной температуре длилось в течение всего времени. Nivo показывает минимальное увеличение HMW при температуре 25°C, поэтому стандартная температура условий хранения была увеличена до 30°C. В связи с тем, что стрессовые условия, сочетающие свет, имеют 3-дневное воздействие света при комнатной температуре (RT), все условия начинаются либо с 3 дней в RT/темноте, либо с 3 дней при 1000 люкс при RT. Восемь стрессовых условий в исследовании: свет/RT (1000 люкс) [L]; металлический стресс (1,5 ppm железа, хрома и меди) @ RT/Темнота 3D + 30°C/Темнота [M]; 1 мМ пероксид @ RT/Темнота 3D + 30°C/Темнота [P]; Свет/RT 3D+ пероксид + 30°C/Темнота [PL]; Свет/RT 3D+ металл + 30°C/Темнота [МЛ]; пероксид + металл @ RT/Темнота 3D + 30°C/Темнота [MP]; Свет/RT 3D+ металл + пероксид + 30°C/Темнота [MPL]; RT/Темнота 3D + 30°C/Темнота [Контроль].

[0852] Композиция состава центральной точки была следующей: 120 мг/мл

Nivo, 20 мМ гистидина при pH 6,0, 250 мМ сахарозы, 0,05% масс./об. полисорбата 80 с 2000 Ед/мл rHuPH20. В данном исследовании было изучено влияние пространства над жидкостью, хелатирующего агента (DTPA/EDTA) и «жертвуемого» окислителя (Met), как показано в таблице 63. В таблице 64 указаны условия хранения и запланированные временные точки для данного исследования.

Таблица 63: Исследование 1- Экспериментальные условия для исследования окисления BMS-986298

Состав	Пространство над жидкостью	DTPA (мкМ)	EDTA (мкМ)	Met (мМ)
1	Воздух	50	0	5,0
2	Воздух	0	0	0,0
3	Воздух	0	0	5,0
4	Воздух	50	0	0
5	Воздух	0	100	5,0
6	Азот	50	0	5,0
7	Азот	0	0	0

(Во всех составах в равной степени присутствуют 120 мг/мл BMS-986298 в 20 мМ гистидина при pH 6,0, 250 мМ сахарозы, 0,05% (масса/объем) полисорбата 80 и 2000 Ед/мл rHuPH20)

Таблица 64: Исследование 1 – Временные точки для исследования окисления

Температура	T0	3 дня	14 дней	1 месяц	3 месяца
Свет [L] (1000 люкс @ RT)	abcd	X	ab	ac	ac
Металл [M] (3D RT/Dart + 30°C/темнота)		X	ab	a	a
Пероксид [P] (3D RT/Dart + 30°C/темнота)		X	ab	a	a
Свет + пероксид [PL] (3D RT/RL + 30°C/темнота)		X	ab	a	a
Свет + Металл [МЛ] (3D RT/RL + 30°C/темнота)		X	ab	a	a
Металл + пероксид [MP] (3D RT/Dart + 30°C/темнота)		X	ab	a	a

Металл + пероксид + свет [MPL] (3D RT/RL + 30°C/темнота)	X	abc	acd	ac
Контроль [RT30] (3D RT/темнота + 30°C)	X	ab	ac	ac

X извлечено, но не проверено. Анализ проб, определен в таблице 65

[0853] В данном отчете авторы изобретения сосредоточились на том, как различные параметры влияют на стабильность ниволумаба (Nivo) с использованием способа эксклюзионной хроматографии (SEC). Оценка стабильности rHuPH20 проводилась только в выбранных временных точках из-за низкой пропускной способности способа. Кроме того, были отобраны отдельные образцы для оценки стабильности PS80 - ключевого вспомогательного вещества, добавляемого для обеспечения стабильности лекарственного продукта. Полученные результаты были использованы для прогнозирования того, как выбранные условия влияют на стабильность Nivo и rHuPH20 при различных условиях окислительного стресса.

Таблица 65: Исследование 1 – Объемы проб для анализа

Код	Измерение	Объем (мл)
a	Внешний вид	0,6
	SEC	0,1
b	MFI*	1.1
c	Ферментативная активность*	0,2
d	PS80	*0,1

* выполняется для выбранных образцов

[0854] Исследование 2: Варьирование композиции состава

[0855] Исследование 2 было проведено для определения диапазонов, в которых наблюдаются преимущества композиции состава. В исследовании 1 были определены условия, которые необходимо включить с точки зрения стресса окисления, ими являются MPL и RT/RL. Данные два стрессовых состояния наряду с контролем были изучены на предмет стресса окисления. Условия составления, которые, как ожидается, будут иметь преимущества при окислении, изучались как при окислении, так и при термическом стрессе (5, 25 и 35°C). Все составы были исследованы в условиях

термического стресса для оценки стабильности.

[0856] Условия окислительного стресса:

- MPL: Комбинация всех трех стрессов: 3 дня при комнатной температуре/комнатном освещении [L] (1000 люкс), с добавлением металла [M] (всего 1,5 ppm, по 0,5 ppm железа, хрома и меди) и пероксида [P] (1 мМ пероксида). Металл и пероксид добавляются в T0 (начальная временная точка). После 3 дней пребывания при комнатной температуре/комнатном освещении образцы перемещаются и хранятся при 30˚C/защите от света в течение оставшегося времени.
- RT30: Контроль к стрессовому состоянию MPL. Комнатная температура/темнота в течение 3 дней, затем 30˚C/защита от света в течение оставшегося времени.
- RT/RL: Комнатная температура/комнатное освещение (1000 люкс) в течение всего периода исследования.

[0857] Условия термического стресса включали (i) 5°C/защиту от света; (ii) 25°C/защиту от света (также использовалось в качестве контроля для условий RT/RL); и (iii) 35°C/защиту от света.

[0858] Были отобраны составы, которые показали, что состав стабилен в следующих композициях: (i) pH: 5,2 - 6,8 гис; (ii) Гистидин: 10 - 100 мМ (альтернативно: сукцинат); (iii) DTPA 10 - 200 мкМ (альтернативно: 100 мкМ EDTA); (iv) Met: 1 - 20 мМ (альтернативно: 10 мМ Trp); (v) rHuPH20: 0 - 5000 Ед/мл; (vi) PS80: 0,01 – 0,1% масс./об. (альтернативно: PS20 0,05% масс./об. и полоксамер 0,2 мг/мл); (vii) сахар: 10 - 400 мМ сахарозы (альтернативно: 10% сорбита и трегалозы); и (viii) белок: 100-175 мг/мл. Для всех данных условий композиция состава центральной точки представляла собой: 120 мг/мл Nivo, 20 мМ гистидина при pH 6,0, 250 мМ сахарозы, 50 мкМ DTPA, 5 мМ Met, 0,05% полисорбата 80 с 2000 Ед/мл rHuPH20 и тестировалась во флаконе.

[0859] Условия, которые были изучены для условий термического и окислительного стресса, показаны в таблице 66. Обратите внимание, что имеются дубликаты независимых препаративных форм в дизайне для условия центральной точки и условия с 50 мкМ DTPA и без Met. Анализ включал в себя небольшую DOE-характеристику вспомогательных веществ, чтобы выяснить, имеются ли какие-либо комбинированные эффекты между pH, DTPA и концентрацией Met. Вариации уровней DTPA, Met и ферментов, в дополнение к наличию азотного пространства над жидкостью, были изучены в данных условиях, где окисление, скорее всего, будет подвержено влиянию данных изменений состава. Были добавлены альтернативные

вспомогательные вещества, чтобы понять, как они ведут себя по сравнению с предлагаемым вспомогательным веществом. В качестве альтернативы Met был добавлен Trp, и в качестве альтернативы DTPA была изучена EDTA. Были изучены более высокие уровни данных альтернативных вспомогательных веществ, чтобы убедиться, что нет никаких сомнений в эффективности альтернативного вспомогательного вещества по сравнению с предлагаемым вспомогательным веществом. В исследование включены независимые повторы для отдельных составов (составы 21 и 29 только с DTPA и составы 15 и 28 - центральная точка).

[0860] Условия для состава, которые были исследованы только для термического стресса, перечислены в таблице 67. Здесь варьировались факторы, которые с меньшей вероятностью влияют на окисление. Такими факторами были: концентрация белка, использование альтернативного буфера и сила буфера, альтернативный сахар и концентрация сахара, и альтернативное поверхностно-активное вещество и различные уровни поверхностно-активного вещества. Также были изучены экстремальные значения pH буфера. Для всех данных условий состав включала 50 мкМ DTPA, 5 мМ Met с 2000 Ед/мл rHuPH20.

[0861] Стресс и временные точки, соответствующие условиям окислительного стресса, приведены в таблице 68. Временные точки, соответствующие условиям термического стресса, приведены в таблице 69.

Таблица 66: Исследование 2- Экспериментальные условия для окисления и термического стресса BMS-986298

Состав	pH	DTPA (мкМ)	Met (мМ)	rHuPH20 (Ед/мл)	Пространство над жидкостью
1	5,5	10	1	2000	Воздух
2	5,5	10	10	2000	Воздух
3	5,5	100	1	2000	Воздух
4	5,5	100	10	2000	Воздух
5	6,5	10	1	2000	Воздух
6	6,5	10	10	2000	Воздух
7	6,5	100	1	2000	Воздух
8	6,5	100	10	2000	Воздух
9	5,5	50	5	2000	Воздух
10	6,5	50	5	2000	Воздух
11	6	10	5	2000	Воздух
12	6	100	5	2000	Воздух
13	6	50	1	2000	Воздух

14	6	50	10	2000	Воздух
15*	6	50	5	2000	Воздух
16	6	0	0	2000	Воздух
17	6	200	5	2000	Воздух
18	6	100 - EDTA	0	2000	Воздух
19	6	100-EDTA	5	2000	Воздух
20	6	0	5	2000	Воздух
21*	6	50	0	2000	Воздух
22	6	50	5	2000	Азот
23	6	0	0	2000	Азот
24	6	50	5	0	Воздух
25	6	50	5	500	Воздух
26	6	50	5	5000	Воздух
27	6	50	Трп (10 мМ)	2000	Воздух
28*	6	50	5	2000	Воздух
29*	6	50	0	2000	Воздух
30	6	50	20	2000	Воздух

*Дублирование независимых препаративных форм.
(Во всех составах в равной степени присутствуют 120 мг/мл BMS-986298 в 20 мМ гистидина, 250 мМ сахарозы и 0,05% (масса/объем) полисорбата 80)

Таблица 67: Исследование 2. Экспериментальные условия для температурного стресса только для BMS-986298

Состав	Концентрация белка (мг/мл)	pH	Буфер	Буфер (мМ)	Сахар	Сахар (мМ)	PS80 (масс%)
31	100	6,0	гис	20	Сахароза	250	0,05
32	175	6,0	гис	20	Сахароза	250	0,05
33	120	5.2	гис	20	Сахароза	250	0,05
34	120	6,8	гис	20	Сахароза	250	0,05
35	120	6,0	гис	10	Сахароза	250	0,05
36	120	6,0	гис	50	Сахароза	250	0,05
37	120	6,0	гис	100	Сахароза	250	0,05
38†	120	6,0	гис	20	без сахара	0	0,05
39†	120	6,0	гис	20	Сахароза	10	0,05
40†	120	6,0	гис	20	Сахароза	400	0,05
41	120	6,0	гис	20	Сахароза	250	0,05 - PS20
42	120	6,0	гис	20	Сахароза	250	полоксамер - 0,2 мг/мл
43††	120	6,0	гис	20	сорбитол	10%	0,05
44††	120	6,0	гис	20	Трегалоза	10%	0,05

45	120	6,0	сукцинат	20	Сахароза	250	0,05
46	120	6	гис	20	Сахароза	250	0
47	120	6	гис	20	Сахароза	250	0,01
48	120	6	гис	20	Сахароза	250	0,1
49†*	120	6	гис	20	Сахароза	250	0,05

* Дублирование независимых препаративных форм для составов 15 и 28 в таблице 66 выше (также проверено на термический стресс). Данный состав также подтверждает сравнимые характеристики двух источников DS.
† Сформулировано с использованием другого источника DS без сахара.
‡ для данного состава позже было обнаружено, что сахар не добавлялся. Полученные результаты были в настоящем описании опущены, но данные два сахара были рассмотрены в исследовании 3.
(Во всех составах в равной степени присутствуют 50 мкМ DTPA, 5 мМ Met с 2000 Ед/мл rHuPH20)

Таблица 68. Исследование 2- Временные точки исследования окисления

Температура	Свет 25°C/1000 люкс@ RT [25RT]	Свет (3D) 25°C + металл + пероксид + 30°C/темнота [MPL]	25C/темнота (3D) + 30°C/темнота [RT30]
T0	abcde	-	-
2 недели	a*	a*	a*
1 M	a	a	a
3 M	-	acde	a

Анализ пробы, определенной в таблице 70. Примечание. Пробы 1M и 3M для MFI были запланированы, но не были проанализированы из-за нехватки персонала во время COVID. *Необязательное тестирование

Таблица 69: Исследование 2 – Временные точки термического исследования

Температура	5°C	25°C	35°C
T0	abcde	-	-
2 недели	-	a*	a*
1M	-	a	a
3M	a	a	acde
6M	a	a	a

Анализ пробы, определенной в таблице 70. Примечание. 6M образцы для MFI были запланированы, но не были проанализированы из-за нехватки персонала во время COVID. * Необязательное тестирование

[0862] В данном исследовании авторы изобретения сосредоточились на том, как различные параметры влияют на стабильность BMS-986298 или ниволумаба, главным образом, способом эксклюзионной хроматографии (SEC). Оценка стабильности rHuPH20 проводилась только в выбранных временных точках из-за низкой пропускной способности способа определения активности фермента. Кроме того, отдельные образцы были выбраны для оценки стабильности PS80, который является ключевым вспомогательным веществом, добавляемым для обеспечения стабильности лекарственного продукта. CE-SDS и iCE были протестированы на отдельных образцах, чтобы понять образование низкомолекулярных веществ и вариантов заряда. Полученные результаты были использованы для прогнозирования того, как выбранные условия влияют в камеру стабильности Nivo и rHuPH20 при различных условиях окислительного стресса.

Таблица 70: Исследование 2 – Объемы анализируемых проб

Код	Измерение	Объем (мл)
a)	Внешний вид	0,5
b)	SEC	0,1
c)	MFI*	1,1
d)	Активность фермента*	0,2
e)	PS80*	0,1
f)	CE-SDS* iCIEF*	0,1*

*выполняется для выборочных образцов

[0863] Исследование 3: Вариация композиции состава для PFS и носимых устройств

[0864] Исследование 3 было организовано аналогично исследованию 2, но условия были сосредоточены на применении предварительно заполненного шприца (PFS) и носимых устройств. Как и в исследовании 2, наихудшее состояние из исследования 1 (MPL) было включено из условия окислительного стресса. Условие комнатная температура/комнатное освещение было исключено, так как оно вряд ли встретится в реальной жизни, а также из-за сильного стресса, который они оказывают на белок и фермент. Как и в исследовании 2, стандартные условия термического

стресса были изучены в дополнение к окислительному стрессу. Условия для состава, которые могут повлиять на окисление, были изучены как для условий окисления, так и для условий термического стресса. Все составы были протестированы в стандартных условиях термостабильности.

[0865] Условия окислительного стресса включали:

- MPL: Комбинация всех трех стрессов: 3 дня при комнатной температуре/комнатном освещении [L] (1000 люкс), с добавлением металла [M] (всего 1,5 ppm, по 0,5 ppm железа, хрома и меди) и пероксида [P] (1 мМ пероксида). Металл и пероксид добавляются в T0 (начальная временная точка). После 3 дней пребывания при комнатной температуре/комнатном освещении образцы перемещают и хранят при 30˚C/защите от света в течение оставшегося времени.
- RT30: Контроль к стрессовому состоянию MPL. Комнатная температура/темнота в течение 3 дней, затем 30˚C/защита от света в течение оставшегося времени.

[0866] Условия термического стресса включали (i) 5°C/защита от света; (ii) 25°C/защита от света; и (iii) 35°C/защита от света.

[0867] Используя данные из исследования 2, диапазон концентраций составов, которые было желательно исследовать, был сужен, чтобы попытаться найти оптимальный диапазон для стабилизации. Были отобраны составы, которые должны были показать, что состав стабилен в данных композициях состава: (i) pH: 5,2 - 6,5 Гис; (ii) Гистидин: 15 - 100 мМ; (iii) DTPA 10 - 200 мкМ (альтернативно: 100 мкМ EDTA); (iv) Met: 1 - 20 мМ (альтернативно: 10 мМ Trp); (v) rHuPH20:0 - 10000 Ед/мл; (vi) PS80: 0,01 - 0,1% масс./об. (альтернативно: PS20 и полоксамер 0,2 мг/мл); (vii) Сахар: 10 - 400 мМ сахарозы (альтернативно: 10% сорбита и трегалозы); (viii) Белок: 100-200 мг/мл; и (ix) Флакон и PFS и патч-насос.

[0868] Для всех данных условий композиция состава центральной точки составляла: 20 мМ гистидин при pH 6,0, 250 мМ сахароза, 50 мкМ DTPA, 5 мМ Met, 0,05% масс./об. полисорбат 80 с 2000Ед/мл rHuPH20. Концентрация белка для образцов во флаконе была на уровне 120 мг/мл. Концентрация белка ниволумаба для образцов в PFS составляла 150 мг/мл. Данное исследование включало несколько условий, изученных в исследовании 2, но без фермента. Ожидалось минимальное влияние фермента, поэтому было проведено подтверждающее исследование с однократным тестированием условий в центральной точке.

[0869] Условия, которые были исследованы как для термического стресса, так и для окислительного стресса, и условия окислительного стресса показаны в таблице 71. Сюда были включены условия, добавленные для покрытия PFS, а также условия, относящиеся к использованию PFS (силиконовое масло и обогащение вольфрамом). Уровни DTPA, Met и фермента также были изучены здесь, где окисление, скорее всего, будет подвержено влиянию данных различий в композиции состава.

[0870] Условия для состава, которые были исследованы только для термического стресса, перечислены в таблице 72. Здесь варьировались факторы, которые с меньшей вероятностью влияют на окисление. Такими факторами были: концентрация белка, сила буфера и уровни фермента. Для всех данных условий состав включал 50 мкМ DTPA и 5 мМ Met.

[0871] Стресс и временные точки, соответствующие условиям окислительного стресса, приведены в таблице 73. Временные точки, соответствующие условиям термического стресса, приведены в таблице 74.

Таблица 71: Исследование 3- Экспериментальные условия для окислительного и термического стресса BMS-986298

Состав	BMS-986298 (мг/мл)	DTPA (мкМ)	Met (мМ)	rHPH20 (Ед/мл)	Замечания
1	150	50	5	2000	Силиконовое масло - 2X PFS
2	120	50	5	2000	PFS
3	150	50	5	2000	PFS
4	165	50	5	2000	PFS
5	120	50	5	2000	связь центральной точки с исследованием 2
6	150	50	5	2000	Присутствие вольфрама 1,0 ppm
7	120	50	5	10 000	
10	120	50	5	0	N =1
11	120	50	5	0	N=2
12	120	50	0	0	N=1
13	120	50	0	0	N=2
14	120	0	0	0	
15	120	0	5	0	
16	120	10	5	0	
17	120	200	5	0	
18	120	50	1	0	
19	120	50	20	0	
20	120	EDTA (100)	5	0	

21	120	50	Трп (10)	0	Трп (10)
22	150	50	5	0	Присутствие вольфрама 1,0 ppm
38	150	50	5	0	Силиконовое масло -2X
39	120	50	5	0	PFS
40	150	50	5	0	PFS
41	165	50	5	0	PFS
42	200	50	5	0	PFS
43	200	50	5	2000	PFS
44	120	50	5	2000	Патч-насос
45	120	50	5	0	Патч-насос
46	120	50	5	2000	Управление патч-насосом

Во всех составах в равной степени присутствуют 20 мМ гистидина, pH 6,0, 250 мМ сахарозы и 0,05% (масса/объем) полисорбата 80.

Таблица 72: Исследование 3. Экспериментальные условия для температурного стресса только для BMS-986298

Состав	Концентрация белка (мг/мл)	pH	Буфер	**Буфер (мМ)**	Сахар (мМ)	PS80 (масс. %)	rHuPH20 (Ед/мл)
8	200	6	Гистидин	**20**	250	0,05	2000
9	120	6	Гистидин	**15**	250	0,05	2000
23	120	5,2	Гистидин	**20**	250	0,05	0
24	120	6,5	Гистидин	**20**	250	0,05	0
25	120	6,0	сукцинат	**20**	250	0,05	0
26	120	6	Гистидин	**20**	Сорбитол (10%)	0,05	0
27	120	6	Гистидин	**20**	10	0,05	0
28	120	6	Гистидин	**20**	400	0,05	0
29	120	6	Гистидин	**20**	Трегалоза (10%)	0,05	0
30	120	6	Гистидин	**20**	250	0,01	0
31	120	6	Гистидин	**20**	250	0,1	0
32	120	6	Гистидин	**20**	250	0,05 (PS-20)	0
33	120	6	Гистидин	**20**	250	Полоксамер (0,2 мг/мл)	0
34	120	6	Гистидин	**15**	250	0,05	0
35	120	6	Гистидин	**100**	250	0,05	0
36	100	6	Гистидин	**20**	250	0,05	0
37	200	6	Гистидин	**20**	250	0,05	0

(Во всех составах в равной степени присутствуют 50 мМ DTPA и 5 мМ Met. Все они расфасованы во флаконы)

Таблица 73. Исследование 3 - Временные точки исследования окисления

Температура	Свет (3D) 25°C + металл + пероксид + 30°C/темнота [MPL]	25C/темнота (3D) + 30°C/темнота [RT30]
T0	-	-
2 недели	a*	a*
1M	a	a
3M	abcde	ab

Анализ пробы определен в таблице 75. *Необязательные испытания.

Таблица 74: Исследование 3 – Временные точки термического исследования

Температура	5°C	25°C	35°C
T0	ab	-	-
2 недели	-	a*	a*
1M	-	a	a
3M	a	a	a
6M	ab	ab	a

Анализ пробы определен в таблице 75. *Необязательные испытания.

[0872] В данном исследовании авторы изобретения сосредоточились на том, как различные параметры влияют на стабильность BMS-986298 или Nivo, главным образом, способом эксклюзионной хроматографии (SEC). Подтверждающие пробы MFI выполняются только для проб 5 и 25°C 6M.

Таблица 75: Исследование 3 – Объемы анализируемых проб

Код	Измерение	Объем (мл)
a	Внешний вид	0,5
	SEC	0,1
b	MFI*	1,1

* выполняется для выборочных образцов

[0873] Материалы и способы

[0874] Материалы

[0875] Подробная информация о материалах, использованных в исследованиях, представлена в таблице 76.

Таблица 76: Информация о материалах

	Номер материала	Иссл. 1 Номер лота	Иссл. 2 Номер лота	Иссл. 3 Номер лота
Nivo DS (170 мг/мл) 01	1274255	A1A8A-036		ABP4182-
Nivo DS - без сахара (10 мг/мл)	N/A	VF Pool CRU 20авг 2018		VF Pool CRU 20авг 2018
rHuPH20 (10 мг/мл)	1405640	104-003-16-290016S	2HUN1803CA	2HUN1803CA
Neopack 2,25 мл Шприцы	RFS 27G1/25BSTW RNSBD260HS		-	6299337
2X Si шприцы	Pilot 0T002 Fleming SCF 18B331YL…0204		-	
Флакон	1325008	AAK2742		AAR0679
Пробки	1292715	AAL9676		AAL9676
Обжимные устройства	1221911	AAC2886		3K78805
Патч-насос-Smart Доза 10мл	West: 26018026		- SC00013392	
Заглушка для патч-насоса	D 21-7HW SD2 10мл поршень FR2RUV		-	905
Патч-насос West картридж	26017493		-	SC00004318
Гистидин	1274255	AAM9761		ABJ4908

Гис HCl H2O	1275346	AAM9523	ABJ5012
Сахароза	1244359	AAS9949	AAX0304
PS80	1353220	ABE4589	NOF 707361Z2
DTPA	05GD11.HQ00003	LG16.360	ABT3852
EDTA	1372205 (Hovione)	AAL6226	AAN9782
Метионин	M9625-1KG (Sigma-Aldrich)	SLBZ1683	SLBZ1683
Пероксид	BDH7690-1 (VWR) 18C065005	18C065005	
Хлорид хрома(III) гексагидрат	27096-1000G-F (Sigma-Aldrich)	BCBC0518V V	BCBC0518
Нитрат меди (II) тригидрат	61194 (Fluka)	1272598 42807279	-
Хлорид меди (II), безводный, 98%	#12457 (Alfa Aesar)	-	A28Q06
Сульфат железа (II) аммония	13448 (Alfa Aesar)	J23N13	J23N13

[0876] **Подготовка образцов**

[0877] Разморозка

[0878] Лекарственное вещество (ЛВ) BMS-986298 и rHuPH20 хранятся в замороженном виде. Данные флаконы с ЛВ были разморожены при комнатной температуре в защищенном от света месте. После оттаивания флаконы с ЛВ осторожно перемешивали для обеспечения однородности. До использования ЛВ хранили при 5°C и после использования оставшуюся часть повторно замораживали. Все ЛВ, использованные в исследованиях составов, не содержат DTPA и PS80.

[0879] Для состава исследования 1 образцы DP были приготовлены с использованием исходного материала ЛВ BMS-986298 (при 170 мг/мл) путем добавления следующих исходных растворов: (i) 10 мг/мл ЛВ rHuPH20 (112 kЕд/мг rHuPH20); (ii) 5% полисорбата 80 (100x); (iii) 2,5 мМ DTPA (50x); (iv) 5 мМ EDTA (50x); (v) 250 мМ метионина (50x); (vi) 20 мМ гистидина, 250 мМ сахарозы pH 6.0; (vii) 50 мМ пероксида водорода (50x); (viii) 50ppm гексагидрата хлорида хрома (III), 50 ppm

тригидрата нитрата меди (II) и 50 ppm сульфата железа аммония (II) (100x). Исходная композиция ЛВ включала 20 мМ гистидина и 250 мМ сахарозы при pH 6,0.

[0880] Для каждого состава готовили образец без добавления металла и пероксида, с добавлением только пероксида, только металла, металла и пероксида. Металлический коктейль готовили непосредственно перед добавлением.

Все составы фильтровались с помощью шприцевого фильтра Acrodisc с мембраной Supor с размером пор 0,2 мкм после осторожного перемешивания. Эксперименты задокументированы в ноутбуке A0F7F-090.

[0881] Для состава исследования 2 образцы DP были приготовлены 4 способами. Во-первых, путем прямого добавления с использованием исходного материала ЛВ BMS-986298 (при 170 мг/мл) без дополнительной подготовки - без замены буфера. Приготовление путем добавления отфильтрованных через мембрану с размером пор 0,2 мкм исходных растворов до целевой концентрации. В состав исходных растворов входят: 2 М сахароза; 495 мМ гистидин pH 6,0; 500 мМ гистидин pH 5,2; 500 мМ гистидин pH 5,5; 211 мМ гистидин pH 6,5; 262,5 мМ гистидин pH 6,8; 5% PS80; 5мМ EDTA; 2,5 мМ DTPA; 250 мМ Мет; 5% PS80; 20 мг/мл полоксамер; 1400 мМ сукцинат; 80% сорбитол; 40% трегалоза; 54 мМ триптофан; и вода.

[0882] Данный подход был использован для составления композиций, где pH ЛВ был 6,0 с сахарозой на уровне 250 мМ. Исходный состав ЛВ представлял собой: 20 мМ гистидина, 250 мМ сахарозы, pH 6,0.

[0883] CM3: Замену буфера производили с использованием автоматизированного оборудования, в котором использовали фильтр 10 кДа с давлением для концентрирования и добавление целевого буфера к композиции обмена целевого буфера. Использовались два входных потока ЛВ: (i) ЛВ с 170 мг/мл исходного Nivo (использовался непосредственно как есть; исходная композиция ЛВ: 20 мМ гистидин, 250 мМ сахароза, pH 6,0); и (ii) ЛВ с 10 мг/мл исходного Nivo (данный материал собирался на стадии вирусной фильтрации до добавления сахаров; образцы, в которых состав сахаров варьировался, использовались как исходное ЛВ; соответствующие сахара добавлялись в ЛВ к целевой композиции, которую затем концентрировали с помощью центрифужного фильтра; для концентрирования использовался фильтр 30 кДа).

[0884] Для составов, где требовался такой тип буферного обмена, требовалось небольшое количество образцов (использовался только для 1 состава с уникальным pH или уровнем сахара). После замены буфера те же исходные материалы, которые

использовались для приготовления составов, как указано выше. Тангенциальная проточная фильтрация (TFF) с использованием фильтра 30 кДа с 8 диаобъемами буферного обмена. Было проведено две TFF: одна при pH 5,5, другая при pH 6,5. Две TFF были необходимы в связи с большим количеством составов при данных двух значениях pH. После замены буфера те же исходные материалы, которые использовались для приготовления составов, как на стадии 1, описанной выше. Диализ был использован для приготовления состава 38 - состава без сахара. Раствор сначала не содержал сахара и затем буфер был заменен на буфер с целевым pH/составом. Затем концентрацию регулировали центрифугированием через мембрану 10 кДа. После замены буфера для приготовления составов использовали те же исходные материалы, что и на стадии 1, описанной выше.

[0885] Для условий MPL добавляли металл путем приготовления исходного раствора 50 ppm гексагидрата хлорида хрома(III), 50 ppm тригидрата нитрата меди (II) и 50 ppm сульфата железа (II) аммония. Аналогичным образом, 50 мМ раствор пероксида водорода был приготовлен для добавления пероксида.

[0886] Все составы фильтровали с помощью шприцевого фильтра Acrodisc с мембраной Supor с размером пор 0,2 мкм после осторожного перемешивания.

[0887] Для подтверждения содержания вспомогательных веществ в TFF-буферах был проведен анализ вспомогательных веществ. Анализ показал, что при CM3-замене на буфер с сорбитом не был добавлен сорбит, и трегалоза также была непреднамеренно пропущена. В связи с этим результаты двух данных образцов (состав 43 и 44) опущены из анализа. Данные условия включены в исследование 3, но без фермента.

[0888] Для состава исследования 3 образцы DP были приготовлены путем прямого добавления, замены буфера посредством CM3 или замены буфера с TFF. Способы приготовления были такими же, как в исследовании 2. Основные различия между исследованиями 2 и 3 заключались в том, что исходное ЛВ представляет собой другую партию материала и один из металлов, использованных для добавления в исследовании 3, был хлорид меди(II), в то время как в исследовании 2 данным металлом был тригидрат нитрата меди(II).

[0889] Картриджи с патч-насосами заполнялись с помощью иглы и помещались в камеру стабильности вместе с флаконами и шприцами. Образцы извлекались в соответствующее время извлечения и замораживались до прибытия патч-насосов Smart Dose. Патч-насос использовали для подачи раствора из картриджа. Для

контрольных образцов жидкость удалялась с помощью иглы.

[0890] Заполнение

[0891] Приготовленный и отфильтрованный DP заполняли в депирогенизированные флаконы объемом 3 мл (стекло Schott Type 1) или шприцы BD Neopack объемом 2,25 мл и закупоривали автоклавированными 13-мм пробками Daikyo (D-21-7S, с покрытием Fluorotec) или плунжерными пробками BD1-3 мл. Флаконы обжимали и помещали на подставку в вертикальном положении. Исключение составляют случаи, когда флаконы размещались горизонтально, под воздействием света. Шприцы хранились в горизонтальном положении.

[0892] Анализ

[0893] Образцы отбирали и затем немедленно замораживали до момента анализа, за исключением образцов, предназначенных для анализа твердых частиц (MFI), которые хранили при 5°C до момента анализа.

[0894] SEC

[0895] Образцы DP анализировали способом SEC-ВЭЖХ (MTD-10789) для количественного анализа HMW и LMW веществ. Образцы анализировали с использованием колонки TSK gel Super SW 3000 (TOSOH 1875) со скоростью потока 0,5 мл/мин и временем работы 35 мин. Мобильная фаза представляла собой 100 мМ фосфата и 100 мМ сульфата натрия pH 6,8. Для каждого прогона вводилось 50 мкг образца Nivo. Пики определяли по УФ-поглощению при 280 нм, для каждого пика измеряли площадь и время удерживания. Процент площади для мономера, HMW и LMW соединений рассчитывался и представлялся в виде отчета.

[0896] Ферментативная активность

[0897] Активность rHuPH20 измеряли с помощью анализа мутности в планшетах, способом CTL-10028 в DCA. Анализ потенции гиалуронидазы основан на образовании нерастворимого преципитата, когда гиалуроновая кислота (ГК) связывается с подкисленной сывороткой. В результате выпадения осадка образуется мутный раствор, оптическую плотность которого можно измерить при 640 нм. Потенция (или активность) гиалуронидазы измеряется непосредственно путем инкубации фермента с субстратом ГК в течение 30 минут, осаждения непереваренной ГК подкисленной сывороткой и сравнения мутности с кривой эталонного стандарта.

Анализ PS80

[0898] Уровни PS80 измеряли с помощью колонки Waters Oasis Max при скорости потока 1 мл/мин с 0,1% муравьиной кислотой с 5 мМ формиата

аммония/0,1% муравьиной кислоты в ацетонитриле при 30°C на масс-спектрометре.

[0899] Твердые частицы

[0900] Уровни частиц были проверены с помощью микропотоковой визуализации (Micro flow imaging (MFI)). 1,1 мл каждого образца заполняли в отдельные стеклянные флаконы для анализа MFI. Пробы тестировались с прогоном пробы воды между анализами. Проба тестировалась с продувкой 0,15 мл и объемом анализа 0,43 мл.

[0901] Варианты заряда с помощью капиллярного изоэлектрического фокусирования с изображением (Imaged Capillary Isoelectric Focusing (iCIEF))

[0902] Варианты заряда анализировали способом iCIEF с использованием системы изоэлектрического фокусирования с визуализацией, известно как iCE3 (MTD-10788). Образцы, смешанные с соответствующими маркерами pI, амфолитами и другими добавками, вводили с помощью автосамплера в капиллярный картридж с фторуглеродным (FC) покрытием. После высокого напряжения предварительной фокусировки и фокусировки передвижение образца фиксировалось УФ-детектором, и изображения поглощения УФ-света получали с помощью CCD-камеры. Проценты площади для основного пика, кислотных вариантов и основных вариантов были рассчитаны и представлены в отчетах.

[0903] CE-SDS

[0904] Относительная процентная чистота Nivo была определена способом CE-SDS с использованием системы LabChip GX II Caliper в невосстанавливающих условиях. Образцы были денатурированы и подготовлены в присутствии додецилсульфата натрия (SDS), детергента, который покрывает белок отрицательным зарядом, эффективно маскируя его собственный заряд. Каждый образец переносился на чип, смешивался с красителем и электрофоретически разделялся. Затем проводилась отдельная стадия обесцвечивания чипа. Оптика прибора регистрировала флуоресцентный сигнал для каждого образца. Белки разделялись по размеру и электрофоретической подвижности. Для каждого пика рассчитывалась относительная процентная площадь и сообщалась относительная процентная чистота (% основного пика).

[0905] **Результаты - Исследование 1**

[0906] **Эксклюзионная хроматография**

[0907] Эксклюзионная хроматография была основным инструментом,

используемым для контроля стабильности ниволумаба в различных изученных стрессовых состояниях.

[0908] Для изучения влияния заполненного азотом пространства над жидкостью были исследованы две состава с пространством над жидкостью, заполненным азотом. Состав с 50 мкм DTPA и 5 мМ Met (состав 1 - воздух, состав 6 - азот) и состав без DTPA и Met (состав 2 - воздух, состав 7 - азот). Изменение HMW показано на ФИГ. 10. Для состава с DTPA и Met воздействие пространства над жидкостью минимально для всех условий, кроме условий RT/Свет с непрерывным воздействием света (ФИГ. 10). В составах без DTPA и без Met имеется преимущество в наличии заполненного азотом пространства над жидкостью (ФИГ. 10). При добавлении DTPA и Met окисление хорошо контролируется, поэтому заполнение азотом пространства над жидкостью не требуется.

[0909] Влияние различных составов на образование HMW компонентов Nivo после воздействия различных стрессовых условий показано на ФИГ. 11. Стрессовые условия включают (слева направо): 1.) контрольное воздействие в течение 3 дней при комнатной температуре/темноте (контроль в течение 3 дней воздействия света для условий L) + термический стресс 30°C (термический стресс для всех условий, кроме RT/Свет); 2.) металл - 0,5ppm каждого из железа, хрома и меди (условия M) + свет (3 дня при 1000 люкс при комнатной температуре - условия L) + термический стресс 30°C; 3.) M + 1mM пероксид (условия P) + L + термический стресс 30°C; 4.) M + L + 30°C термический стресс; 5.) M + 30°C термический стресс; 6.) P + L + 30°C термический стресс; 7.) P + 30°C термический стресс; 8.) Комнатная температура/комнатное освещение (без дополнительного термического стресса).

[0910] Во всех стрессовых условиях состав 2: без DTPA и без Met имел самую высокую скорость образования HMW, за ним следует состав 3: без DTPA и 5 мМ Met. Состав 5: с 100 мМ EDTA и 5 мМ Met, за ним следует состав 4: 50 мкМ DTPA без Met. Лучшим оказался состав 1 с 50 мкМ DTPA и 5 мМ Met. Такое поведение наблюдается во всех стрессовых условиях, но лучше всего различия видны при рассмотрении MPL (комбинированное стрессовое условие с термическим стрессом 30°C). На ФИГ. 12 показан график данного стрессового условия MPL в сравнении со всеми условиями для состава.

[0911] Внимательное изучение стрессового условия MPL на ФИГ. 12 показывает преимущество наличия 50 мкМ DTPA и 5 мМ Met (состав 1 - воздух и 6 - азот). Наличие обоих антиоксидантов в составе стабилизирует Nivo таким образом,

что замена воздуха азотом в пространстве над жидкостью не показывает улучшения стабилизации (состав 1 полностью перекрывается с 6). Наличие только DTPA (состав 4: 50 мкМ DTPA с 0 мМ Met) превосходит более высокие количества EDTA с Met (состав 5: 100 мкМ EDTA с 5 мМ Met). Наибольшее образование HMW наблюдается при отсутствии DTPA и Met с азотом в пространстве над жидкостью (состав 2: 0 мкМ DTPA с 0 мМ Met), затем следует тот же состав, но с азотом в пространстве над жидкостью (состав 7) и с одним Met (состав 3: 0 мкМ DTPA с 5 мМ Met).

[0912] Другим способом изучения полученных данных является рассмотрение композиций составов и их поведения в зависимости от условий стресса, как показано на ФИГ. 13. Можно заметить преимущества наличия как DTPA, так и Met. Такой способ изучения данных показывает, что состояние RT/Свет является наихудшим случаем, и для индивидуальной перспективы стресса 3 дня света и/или металла приводят к образованию наибольшего % HMW и влияние пероксида приглушается. Преимущество присутствия азота в пространстве над жидкостью очень очевидно для условий RT/Свет. Для образцов без DTPA, без Met присутствие азота в пространстве над жидкостью снижает % HMW приблизительно на 0,5% во всех стрессовых состояниях. Для составов с DTPA и Met значительного улучшения за счет присутствия азота в пространстве над жидкостью не наблюдается. %HMW для 100 мкМ EDTA с 5 мМ Met больше, чем для 50 мкМ DTPA с 5 мМ Met, но размер эффекта может зависеть от точного стрессора.

[0913] Для статистической оценки были рассмотрены различные линейные модели. Отсутствие оценки чистой ошибки, дисбаланса конструкции и сложной динамики "состав-стресс" не позволило попытаться создать единую объединенную модель, включающую все факторы. Образцы с азотом и EDTA были исключены из анализа. Оставшиеся наблюдения за хелатором-метионином показаны на ФИГ. 14 и служат наглядной мотивацией для анализа, описанного ниже. Условие RT/комнатное освещение, хотя и было включено в статистическую модель, было удалено из приведенного ниже графика, поскольку данное экстремальное стрессовое условие было менее значимым для предполагаемого случая использования.

[0914] Для такого уменьшенного набора данных очевиден потенциал взаимодействия хелатора и стресса. Но в образцах, содержащих только DTPA, эффект стресса кажется аддитивным. Это позволяет предполагать, что статистическая модель основного эффекта может быть оценена и может быть использована для сравнения DTPA с метионином/без него. Возможны остаточные дисперсионные различия в

зависимости от наличия или отсутствия DTPA.

[0915] На основании представленного анализа было проведено тщательное сравнение DTPA с 5 мМ метионином или без него с воздушным пространством над жидкостью. При использовании образцов, содержащих только DTPA и воздушное пространство над жидкостью, линейная модель основного эффекта, включающая метионин и стресс, показала, что добавление метионина незначительно повышает %HMW (разница 0,0375%, p ~ 0,0796) через 4 недели и статистически значимое среднее улучшение %HMW (разница 0,125%, p ~ 0,0016) через 12 недель при всех условиях стресса (данные не показаны).

[0916] **Полисорбат 80**

[0917] Было протестировано подмножество образцов, чтобы понять стабильность полисорбата - поверхностно-активного вещества, критически важного для защиты Nivo от образования твердых частиц. Уровни полисорбата 80 (PS80) для протестированных образцов показаны в таблице 77. PS80 окисляется под воздействием металлов, пероксида и света. Деградация уменьшается при добавлении хелатирующего средства (DTPA или EDTA). В условиях без хелатора уровень PS80 значительно снижается при хранении. Такое снижение наблюдается даже при 5°C через 2 месяца хранения. После 1 месяца хранения при 30°C с металлическим и пероксидным стрессом, из которых 3 дня при комнатной температуре/комнатном освещении, уровень PS80 в образцах без хелатора падает до менее чем 0,1 мг/мл (от начального целевого уровня 0,5 мг/мл). Пространство над жидкостью, заполненное азотом, немного защищает PS80 (0,08 мг/мл под азотом против 0,02 мг/мл под воздухом).

Таблица 77: Исследование 1 - уровни PS80 через 2 месяца при 5°C и через 1 месяц через 3 дня при освещении + металл + пероксид + 30°C/темнота [MPL], начиная с 0,5 мг/мл исходного PS80.

Состав № (пространство над жидкостью)	DTPA (мкМ)	EDTA (мкМ)	Мет (мМ)	PS80 MP 5C 2M (мг/мл)	PS80 MPL 30C 1M (мг/мл)
1	50	0	5	0,49	0,49
2	0	0	0	0,45	0,02
3	0	0	5	0,34	0,03
4	50	0	0	0,49	0,51
5	0	100	5	0,49	0,48
6 (N2)	50	0	5	0,51	0,49
7 (N2)	0	0	0	0,46	0,08

[0918] **Ферментативная активность rHuPH20**

[0919] Чтобы оценить стабильность rHuPH20, ферментативная активность была измерена для ограниченного набора образцов. Результаты анализа ферментативной активности показаны на ФИГ. 15. Уровни фермента для образцов, хранившихся при 30°C/темноте с MPL стрессом (металлический и пероксидный стресс, при котором первые 3 дня были при комнатной температуре/комнатном освещении), приведены в таблице на ФИГ. 15 (в середине). Составы с DTPA и Met (состав 1) превосходят составы только с DTPA, которые превосходят составы с одним только Met. Составы, не содержащие ничего (ни DTPA, ни метионина), характеризовались наибольшим снижением ферментативной активности.

[0920] Образцы, подвергнутые воздействию 3 дней при комнатной температуре/темноте с последующим воздействием 30°C/темноты на ФИГ. 15 (слева) показывают аналогичное поведение, где составы с DTPA и Met и составы только с DTPA превосходят составы только с Met и составы, не содержащие ни DTPA, ни Met.

[0921] Образцы, подвергнутые воздействию RT/RL на ФИГ. 15 (справа), продемонстрировали другую активность фермента rHuH20. В данных условиях все составы имели несообщаемые (низкие) уровни активности rHuPH20 для всех 3 M образцов, за исключением образца, который выдерживался в заполненном азотом пространстве над жидкостью с DTPA и Met. Различия в составах не наблюдаются после длительного воздействия комнатного света с воздушным пространством над жидкостью. Полученные результаты позволяют предположить, что азот в пространстве над жидкостью в сочетании с DTPA и Met помогает защитить фермент при длительном воздействии комнатной температуры/ комнатного освещения.

[0922] **Образование частиц**

[0923] Образование твердых частиц оценивалось в двухнедельной временной точке для всех стрессовых условий и составов. Уровни крупных частиц ≥25 мкм частиц являются низкими (менее 32 частиц/мл) для всех образцов. Уровень частиц ≥10 мкм частиц ниже 164 частиц/мл для всех образцов. Образцы с наибольшим количеством частиц были получены при комнатной температуре/комнатном освещении, но количество частиц было значительно ниже спецификаций USP <788>. В ходе данного исследования проблем с частицами не наблюдалось.

[0924] Стабильность состава контролировалась по трем ключевым компонентам: стабильность Nivo с помощью SEC, стабильность rHuPH20 путем

мониторинга ферментативной активности и стабильность PS80 путем измерения уровня PS80. Для каждого из данных атрибутов качества показатели для состава и ранжирование от лучшего состава к худшему (сверху вниз) приведены в таблице 78.

[0925] Стабильность Nivo по данным SEC показывает увеличение HMW в ответ на окислительные стрессы. При различных комбинациях стрессов (металл, пероксид и свет) увеличение HMW защищено присутствием антиоксидантов. Комбинация Met и DTPA демонстрирует лучшую стабильность по сравнению с одним только DTPA, которая превосходит Met, который превосходит составы, не содержащие ни DTPA, ни Met.

[0926] Ферментативная активность rHuPH20 снижается в ответ на окислительные стрессы. В частности, такое снижение является значительным в результате светового стресса. Преимущества композиции состава наблюдаются при сочетании условий металлического, пероксидного и светового стресса (3 дня). Ферментативная активность лучше всего сохраняется в присутствии Met и DTPA. Наблюдается заметное снижение активности фермента по сравнению с измеренной в присутствии одного только DTPA активностью, которая заметно понижена по сравнению с измеренной в присутствии одного только Met активностью, которая заметно понижена по сравнению с активностью, измеренной в отсутствии Met и DTPA.

[0927] Защита PS80 наблюдалась в условиях, в которых присутствовал хелатирующее средство (DTPA). Met не защищал PS80 от деградации.

Таблица 78: Исследование 1 - Изученные атрибуты качества, по которым можно было отличить составы, и ранжирование данных составов

Атрибут качества	Nivo SEC-HMW	rHuPH20 Активность фермента	PS80 стабильность
(лучший)	Met + DTPA	Met + DTPA	Met + DTPA = DTPA
Ранжирование	DTPA	DTPA	Met =
	Нет Met	Met	
(наихудший)	Нет	Нет	

[0928] Основные результаты исследования различных комбинаций пероксида,

металла и света с добавлением термического стресса при 30°C с различными составами показывают, что преимущество имеет состав, содержащий 50 мкМ DTPA и 5 мМ Met. Стабильность при использовании только одного из данных антиоксидантов ниже, чем при использовании как хелатирующего средства, так и «жертвуемого» антиоксиданта.

[0929] **Результаты - Исследование 2**

[0930] Были проанализированы составы, представленные в таблицах 68 и 69. В данном исследовании цель состояла в том, чтобы понять факторы и диапазоны, в которых можно наблюдать преимущества данного состава. Исследуемые факторы и диапазоны: pH: 5,2 - 6,8 Гис; гистидин: 10 - 100 мМ (альтернативно: сукцинат); DTPA 10 - 200 мкМ (альтернативно: 100 мкМ EDTA); Met: 1 - 20 мМ (альтернативно: 10 мМ Trp); rHuPH20: 0 - 5000 Ед/мл; PS80: 0,01 - 0,1% масс./об. (альтернативно: PS20 и полоксамер 0,2 мг/мл); сахар: 10 - 400 мМ сахарозы; и белок: 100-175 мг/мл. В результате было получено 49 различных составов, подлежащих исследованию. Значения pH, уровни DTPA и Met варьировались совместно. В составах с максимальными и минимальными значениями диапазонов вспомогательных веществ за один раз изменялся один фактор при остальных факторах на уровнях целевой композиции. Целевой состав: 120 мг/мл Nivo в 20 мМ гистидина, 250 мМ сахарозы, 50 мкМ DTPA, 5 мМ Met, 2000 Ед/мл rHuPH20, 0,05% масс./об. PS80 при pH 6,0 с воздушным пространством над жидкостью. Обратите внимание, что было предусмотрено дублирование независимых препаративных форм в дизайне для условия с центральной точкой и условия с 50 мкМ DTPA и без Met. Распределение исследуемого состава показано на ФИГ. 16A-16F.

[0931] Аналогично диапазонам составов, исследованных при целевой композиции, альтернативные вспомогательные вещества: сукцинат, 100 мкМ EDTA, 10 мМ Trp, 0,05% масс./об. PS20, полоксамер 0,2 мг/мл, 10% сорбитол и трегалоза, также были исследованы с другими вспомогательными веществами при целевой композиции.

[0932] **Эксклюзионная хроматография**

[0933] Эксклюзионная хроматография была основным инструментом, используемым для контроля стабильности ниволумаба.

[0934] Воспроизводимость

[0935] Дублированные и независимые препаративные формы были включены в дизайн для условия с центральной точкой и условия с 50 мкМ DTPA и без Met.

Конечное количество HMW, определенное с помощью SEC, в зависимости от стресса и временной точки для данных составов представлено в таблице 79.

Таблица 79: Исследование 2 - Высокомолекулярные соединения по данным SEC для последней временной точки в каждом из исследованных стрессовых условий для дублированных образцов - центральный и 0 Met составы. Композиция центрального состава: 120 мг/мл Nivo, 20 мМ гистидина, 250 мМ сахарозы, 50 мкМ DTPA, 5 мМ Met, 0,05% масс./об. PS80 при pH 6,0. Композиция 0 Met: 120 мг/мл Nivo, 20 мМ гистидина, 250 мМ сахарозы, 50 мкМ DTPA, 0,05% масс./об. PS80 при pH 6,0.

			% HMW по данным SEC					
Состав	Описание	Источник ЛВ	5°C	25°C	35°C	RT/30	RT/RL	MPL
			6M	6M	3M	3M	1M	3M
15	Центр	Nivo ЛВ	0,9	1,4	1,7	1,2	1,9	1,5
28	Центр	Nivo ЛВ	0,9	1,4	1,8	1,3	1,8	1,6
49	Центр	ЛВ без сахара	0,8	1,3	1,6	-	-	-
21	0 Met	Nivo ЛВ	0,9	1,5	1,8	1,3	1,9	1,8
29	0 Met	Nivo ЛВ	0,9	1,5	1,8	1,3	1,9	1,8

[0936] Уровень фермента

[0937] В данном исследовании был изучен диапазон уровней фермента от 0 до 5000 Ед/мл. Конечное количество HMW по данным SEC для различных уровней фермента представлено в таблице 80 для конечной временной точки для данного стрессового состояния. Композиция состава имела различный уровень фермента с 120 мг/мл Nivo, 20 мМ гистидина, 250 мМ сахарозы, 50 мкМ DTPA, 5 мМ Met, 0,05% масс./об. PS80 при pH 6,0. Уровень фермента не оказывал влияния на образование HMW во всех исследованных стрессовых состояниях.

Таблица 80: Исследование 2- Высокомолекулярные соединения по данным SEC для последней временной точки в каждом из исследованных стрессовых условий при различном уровне фермента. Композиция состава: 120 мг/мл Nivo, 20 мМ гистидина, 250 мМ сахарозы, 50 мкМ DTPA, 5 мМ Met, 0,05% PS80 при pH 6,0.

Фермент (Ед/мл)	% HMW по данным SEC					
	5°C 6M	25°C 6M	35°C 3M	RT/30 3M	RT/RL 1M	MPL 3M
0	0,9	1,4	1,8	1,2	1,9	1,6
500	1,0	1,4	1,8	1,2	1,9	1,6
2000	0,9	1,4	1,7	1,2	1,9	1,5
2000	0,9	1,4	1,8	1,3	1,8	1,6
5000	0,9	1,4	1,8	1,2	1,9	1,6

[0938] Альтернативные вспомогательные вещества

[0939] В данном исследовании были изучены альтернативные вспомогательные вещества с композицией центральной точки для всех других вспомогательных веществ. В качестве альтернативного поверхностно-активного вещества PS80 при 0,05% масс./об., были изучены 0,05% масс./об. PS20 и 0,2 мг/мл полоксамера. В качестве буфера, альтернативного 20 мМ гистидину, использовался 20 мМ сукцинат. Альтернативные варианты поверхностно-активного вещества и буфера вряд ли окажут большое влияние на защиту от окисления, поэтому эффективность данных альтернативных вариантов изучалась в условиях термического стресса. Конечное количество HMW, измеренное с помощью SEC с использованием данных альтернативных вспомогательных веществ, приведено в таблице 81 для конечной временной точки для данного стрессового состояния рядом с условиями центральной точки (с целевой композицией состава 120 мг/мл Nivo, 20 мМ гистидина, 250 мМ сахарозы, 50 мкМ DTPA, 5 мМ Met, 2,000 Ед/мл rHuPH20, 0,05% масс./об. PS80 при pH 6.0). В качестве альтернативного вспомогательного вещества PS80 может быть заменен на PS20 или полоксамер с минимальным влиянием на стабильность. Применение гистидина в качестве буферного агента является критическим для стабильности Nivo и не может быть заменено сукцинатом. При использовании сукцинатного буфера наблюдается значительное увеличение количества HMW во всех изученных условиях термического стресса (5°C, 25°C и 35°C).

Таблица 81: Исследование 2 - Высокомолекулярные соединения по данным SEC для последней временной точки в каждом из исследованных стрессовых условий для альтернативных вспомогательных веществ. Композиция центральной точки: 120 мг/мл Nivo, 20 мМ гистидина, 250 мМ сахарозы, 50 мкМ DTPA, 5 мМ Met, 0,05% масс./об. PS80, 2000 Ед/мл rHuPH20 при pH 6,0.

Альтернативное вспомогательные вещество	% HMW по данным SEC		
	5°C	25°C	35°C
	6M	6M	3M
Центр	0,9	1,4	1,7
Центр	0,9	1,4	1,8
PS20	0,9	1,3	1,7
Полоксамер	0,9	1,3	1,7
Сукцинат	1,3	3,2	6,8

[0940] В качестве альтернативного хелатора 50 мкМ DTPA, было исследовано 100 мкМ EDTA. DTPA является лучшим хелатирующим средством, поэтому здесь изучался более высокий уровень EDTA. Аналогично, в качестве альтернативного «жертвуемого» средства для 5 мМ метионина было использовано 10 мМ триптофана. Так как добавление хелатора и «жертвуемого» окислителя может повлиять на защиту от окисления, их исследовали как в условиях термического, так и окислительного стресса. Конечное количество HMW, измеренное с помощью SEC с использованием данных альтернативных вспомогательных веществ, представлено в таблице 82 для конечной временной точки для данного стрессового состояния рядом с состоянием центральной точки и соответствующим контролем (с композицией состава центральной точки 120 мг/мл Nivo, 20 мМ гистидина, 250 мМ сахарозы, 50 мкМ DTPA, 5 мМ Met, 2 000 Ед/мл rHuPH20, 0,05% PS80 при pH 6,0).

Таблица 82: Исследование 2 Высокомолекулярные виды по данным SEC для последней временной точки в каждом из исследованных стрессовых условий для вспомогательных веществ, альтернативных для DTPA и Met. Композиция включает: 120 мг/мл Nivo, 20 мМ гистидина, 250 мМ сахарозы, 0,05% масс./об. PS80, 2000 Ед/мл rHuPH20 при pH 6,0.

Состав	% HMW по данным SEC					
	5°C 6M	25°C 6M	35°C 3M	RT/30 3M	RT/RL 1M	MPL 3M
5 мМ Met 50 мкМ DTPA	0,9	1,4	1,7	1,2	1,9	1,5
5 мМ Met 50 мкМ DTPA	0,9	1,4	1,8	1,3	1,8	1,6
10 мМ Trp 50 мкМ DTPA	0,9	1,4	1,8	1,2	2,4	1,9
5 мМ Met 100 мкМ EDTA	0,9	1,5	1,8	1,3	1,8	2,1
0 мМ Met 100 мкМ EDTA	1	1,7	2,1	1,3	1,9	3,7
0 мМ Met 50 мкМ DTPA	0,9	1,5	1,8	1,3	1,9	1,8
0 мМ Met 50 мкМ DTPA	0,9	1,5	1,8	1,3	1,9	1,8

[0941] Представленные в таблице значения % HMW через 3 месяца (3M) стресса MPL ясно показывают уникальное преимущество наличия DTPA и то, что он является лучшим хелатирующим средством по сравнению с EDTA. Наблюдаемый %HMW составил 1,6% по сравнению с 2,1% HMW через 3 месяца стресса MPL. Оценка только хелатора (без Met) дополнительно иллюстрирует преимущество DTPA по сравнению с EDTA (1,8% HMW для DTPA против 3,7% HMW для EDTA после 3M стресса MPL). Точно так же данные показывают, что Met превосходит Trp. Наблюдаемый %HMW составлял 1,9% для Met по сравнению с 2,4% для Trp после 1M при RT/RL и 1,5% для Met по сравнению с 1,9% HMW для Trp после 3M MPL. Увеличение % HMW лучше всего контролируется при составлении с 5 мМ Met и 50 мкМ DTPA. Полученные результаты согласуются с исследованием 1.

[0942] Уровни DTPA

[0943] Исследовали диапазон уровней DTPA от 0 до 200 мкМ с композицией состава в центральной точке, состоящей из 120 мг/мл Nivo, 20 мМ гистидина, 250 мМ сахарозы, 5 мМ Met, 2000 Ед/мл rHuPH20, 0,05% масс./об. PS80 при pH 6,0. Конечные значения HMW, измеренные с помощью SEC, при различных уровнях Met для конечного момента времени для данного стрессового состояния приведены в таблице 83. При ускоренных температурных условиях (25 °C и 35 °C) и условиях окисления MPL оказывает влияние наличие 0 мкМ DTPA; однако в диапазоне между концентрациями от

10 до 200 мкМ не наблюдается убедительных доказательств зависимого от концентрации эффекта DTPA. Такое поведение постоянно во всех стрессовых состояниях во времени, как показано на ФИГ. 17.

Таблица 83: Исследование 2 Высокомолекулярные соединения по данным SEC для последней временной точки в каждом стрессовом состоянии, изученном для различных уровней DTPA. Композиция включает: 120 мг/мл Nivo, 20 мМ гистидина, 250 мМ сахарозы, 5 мМ Met, 0,05% масс./об. PS80, 2000 Ед/мл rHuPH20 при pH 6,0.

DTPA				% HMW по данным SEC		
(мкМ)	5°C 6M	25°C 6M	35°C 3M	RT/30 3M	RT/RL 1M	MPL 3M
0	1,0	1,8	2,2	1,4	2,0	2,4
10	0,9	1,4	1,7	1,2	1,8	1,5
50	0,9	1,4	1,7	1,2	1,9	1,5
50	0,9	1,4	1,8	1,3	1,8	1,6
100	0,9	1,4	1,7	1,2	1,8	1,6
200	0,9	1,4	1,7	1,2	2,0	1,5

[0944] Уровни метионина

[0945] Был изучен диапазон уровней метионина (Met) от 0 до 20 мМ Met с композицией состава в центральной точке, состоящей из 120 мг/мл Nivo, 20 мМ гистидина, 250 мМ сахарозы, 5 мМ Met, 2000 Ед/мл rHuPH20, 0,05% масс./об. PS80 при pH 6,0. Конечные значения HMW, измеренные с помощью SEC, при различных уровнях Met для конечного момента времени для данного стрессового состояния приведены в таблице 84. Для температурных условий (5°C, 25°C, 35°C и контроль RT/30°C) не наблюдается значительного влияния изменений в уровнях Met. Преимущество более высоких уровней Met наблюдается в комбинации с DTPA в условиях окислительного стресса RT/RL в течение 1 месяца и MPL в течение 3 месяцев. Преимущества минимальны из-за большего влияния добавления DTPA на образование HMW во всех данных составах.

Таблица 84: Исследование 2 - Высокомолекулярные соединения по данным SEC для последней временной точки в каждом из исследованных стрессовых условий для различных уровней Met. Композиция включает: 120 мг/мл Nivo, 20 мМ гистидина, 250 мМ сахарозы, 50 мкМ DTPA, 0,05% масс./об. PS80, 2000 Ед/мл rHuPH20 при pH 6,0.

Уровень Met	% HMW по данным SEC					
	5°C	25° C	35°C			
(мМ)	6M	6M	3M	RT/30 3M 3M	RT/RL 1M	MPL
0	0,9	1,5	1,8	1,3	1,9	1,8
0	0,9	1,5	1,8	1,3	1,9	1,8
1	0,9	1,5	1,7	1,3	1,9	1,7
5	0,9	1,4	1,7	1,2	1,9	1,5
5	0,9	1,4	1,8	1,3	1,8	1,6
10	0,9	1,4	1,6	1,2	1,8	1,5
20	0,9	1,4	1,7	1,2	1,6	1,4

[0946] Изменение %HMW во времени при каждом условии показано на ФИГ. 18. При всех стрессовых состояниях 0 мкМ DTPA с 0 мМ Met имеет самый высокий уровень HMW. Различие между составами с 0 и 5 мМ метионина на уровне 0 мкМ DTPA является четким - добавление Met благоприятно сказывается на стабильности Nivo. При целевой концентрации 50 мкМ DTPA влияние уровней Met при различных стрессах на временных точках 2 недели и 1 месяц различить сложнее. Однако при временных точках 3 месяца и 6 месяцев необходима тщательная оценка.

[0947] Тщательная оценка MPL (металл + пероксид + 3D света с последующим стрессовым состоянием 30°C/темнота) показана на ФИГ. 19. Примечание: для состава с 0 мМ Met с 50 мкМ DTPA и состава с 5 мМ Met с 50 мкМ DTPA имеются дублирующие независимые составы, отмеченные двумя и тремя знаками *. Составы с 0 и 5 мМ Мет при 0 мкМ DTPA различаются во всех трех временных точках. При концентрации 50 мкМ DTPA образование %HMW зависит от концентрации метионина как в момент времени 1 месяц, так и в момент времени 3 месяца при данных условиях MPL. В частности, в условиях стресса MPL в момент времени 3 месяца четко прослеживается преимущество более высокого уровня Met. Образование HWM при концентрации 100 и 200 мкМ DTPA с 5 мМ Met аналогично концентрации 50 мкМ DTPA с 5 мМ Met. Это объясняется бинарным эффектом присутствия DTPA, но нет убедительных доказательств эффекта

DTPA, зависящего от концентрации, как обсуждалось выше.

[0948] pH

[0949] Был исследован диапазон уровней pH от 5,2 до 6,8 с композицией состава в центральной точке, состоящей из 120 мг/мл Nivo, 20 мМ гистидина, 250 мМ сахарозы, 5 мМ Met, 2000 Ед/мл rHuPH20, 0,05% масс./об. PS80 при pH 6,0. Конечные значения HMW, измеренные с помощью SEC, при различных уровнях pH для конечного момента времени для данного стрессового состояния приведены в таблице в таблице 85. Для всех температурных условий (5°C, 25°C и 35°C) и условий окисления (RT/RL, MPL и контроль RT/30°C) наблюдается влияние более высокого уровня pH. В диапазоне pH от 5,2 до 6,5 состав обладает хорошей стабильностью.

Таблица 85: Исследование 2 Высокомолекулярные соединения по данным SEC для последней временной точки в каждом из исследованных стрессовых условий для различных уровней pH. Состав включает: 120 мг/мл Nivo, 20 мМ гистидина, 250 мМ сахарозы, 50 мкМ DTPA, 5 мМ Met, 0,05% масс./об. PS80 и 2000 Ед/мл rHuPH20.

pH	% HMW по данным SEC					
	5°C 6M	25°C 6M	35°C 3M	RT/30 3M	RT/RL 1M	MPL 3M
5,2	1,0	1,4	1,9	-	-	-
5,5	0,9	1,5	1,8	1,2	1,8	1,5
6,0	0,9	1,4	1,7	1,2	1,9	1,5
6,0	0,9	1,4	1,8	1,3	1,8	1,6
6,5	1,1	1,8	2,0	1,5	2,7	2,1
6,8	1,2	2,6	4,1	-	-	-

[0950] DOE Оценка pH, Met и уровня DTPA

[0951] Был проведен небольшой анализ DOE для характеристики вспомогательных веществ в зависимости от комбинации уровней pH, Met и DTPA. Составы в DOE приведены в таблице 86, где все составы содержат 120 мг/мл Nivo, 20 мМ гистидина, 250 мМ сахарозы, 2000 Ед/мл rHuPH20 и 0,05% PS80. Конечные значения HMW по данным SEC при различных уровнях Met заносятся в таблицу для конечного момента времени для данного стрессового условия. Изучение результатов показывает явный эффект pH во всех стрессовых условияях. Результаты данной части исследования согласуются с результатами моновариантного исследования, описанными выше. Для состояния MPL доминирующим эффектом является pH, при этом более высокий pH приводит к более высоким значениям HMW. Существует защитный эффект при более высоких уровнях Met, и изученные здесь уровни DTPA (от

10 до 100 мкМ) не влияют на HMW.

Таблица 86: Исследование 2 Высокомолекулярные соединения по данным SEC для последней временной точки в каждом стрессовом состоянии, изученном для DOE, в котором изучалось влияние уровней pH, Met и DTPA. Композиция включает: 120 мг/мл Nivo, 20 мМ гистидина, 250 мМ сахарозы, 0,05% масс./об. PS80 и 2000 Ед/мл rHuPH20.

pH	DTPA (мкМ)	Met (мМ)	5°C 6M	25°C 6M	35°C 3M	RT/30 3M	RT/RL 1M	MPL 3M
5,2	50	5	1	1,4	1,9	-	-	-
5,5	10	1	0,9	1,5	1,9	1,3	1,7	1,5
5,5	10	10	0,9	1,4	1,8	1,2	1,6	1,4
5,5	100	1	0,9	1,5	1,9	1,3	1,8	1,6
5,5	100	10	0,9	1,4	1,8	1,2	1,6	1,4
5,5	50	5	0,9	1,5	1,8	1,2	1,8	1,5
6	10	5	0,9	1,4	1,7	1,2	1,8	1,5
6	100	5	0,9	1,4	1,7	1,2	1,8	1,6
6	50	1	0,9	1,5	1,7	1,3	1,9	1,7
6	50	10	0,9	1,4	1,6	1,2	1,8	1,5
6	50	5	0,9	1,4	1,7	1,2	1,9	1,5
6	50	5	0,9	1,4	1,8	1,3	1,8	1,6
6	50	5	0,8	1,3	1,6	-	-	-
6,5	10	1	1,1	1,8	2,1	1,6	2,8	2,2
6,5	10	10	1,1	1,8	1,9	1,5	2,7	1,9
6,5	100	1	1,1	1,8	2	1,6	2,8	2,4
6,5	100	10	1,1	1,7	1,9	1,5	2,6	1,9
6,5	50	5	1,1	1,8	2	1,5	2,7	2,1
6,8	50	5	1,2	2,6	4,1	-	-	-

[0952] Влияние уровней гистидина

[0953] Был изучен диапазон уровней гистидина от 10 до 100 мМ, с композицией состава в центральной точке, состоящей из 120 мг/мл Nivo, 20 мМ гистидина, 250 мМ сахарозы, 5 мМ Met, 2000 Ед/мл rHuPH20, 0,05% масс./об. PS80 при pH 6,0. Конечные значения HMW, измеренные с помощью SEC, при различных уровнях гистидина для конечной временной точки для данного стрессового состояния приведены в таблице 87. Данные свидетельствуют о том, что гистидин является не только буферным агентом в составе, но и обладает защитными свойствами, при этом более высокие уровни гистидина увеличивают стабильность белка. При низких концентрациях гистидина защитное поведение сводится к минимуму, особенно при концентрации гистидина ниже 20 мМ. Приведенные здесь данные свидетельствуют о наличии резкого падения ниже уровня 20 мМ гистидина. Точное местоположение данного резкого падения неизвестно. Ожидается, что диапазон концентраций гистидина от 15 мМ до 100 мМ

будет иметь сопоставимую и хорошую стабильность.

Таблица 87: Исследование 2 Высокомолекулярные соединения по данным SEC для последней временной точки в каждом из исследованных стрессовых условий для различных уровней гистидина. Композиция включает: 120 мг/мл Nivo, 20 мМ гистидина, 250 мМ сахарозы, 0,05% масс./об. PS80 и 2000 Ед/мл rHuPH20 при pH 6,0.

	% HMW по данным SEC		
Гис (мМ)	5°C 6M	25°C 6M	35°C 3M
10 мМ	1,1	2,1	4,1
20 мМ	0,9	1,4	1,7
20 мМ	0,9	1,4	1,8
50 мМ	0,9	1,1	1,5
100 мМ	0,8	0,9	1,3

[0954] Влияние концентрации белка

[0955] Исследуемый диапазон концентраций белка составлял от 100 до 175 мг/мл, при этом композиция состава центральной точки состояла из 120 мг/мл Nivo, 20 мМ гистидина, 250 мМ сахарозы, 5 мМ Met, 2000 Ед/мл rHuPH20, 0,05% масс./об. PS80 при pH 6,0. Конечные значения HMW по данным SEC при различных концентрациях белка для конечного момента времени для данного стрессового состояния сведены в таблицу 88. Более высокие концентрации белка показали более высокое образование HMW, и это согласуется с другими исследованиями при более высокой концентрации белка.

Таблица 88: Исследование 2 Высокомолекулярные соединения по данным SEC для последней временной точки в каждом стрессовом состоянии, изученном для различных концентраций белка. Композиция включает: 120 мг/мл Nivo, 20 мМ гистидина, 250 мМ сахарозы, 0,05% масс./об. PS80 и 2000 Ед/мл rHuPH20 при pH 6,0.

Белок Конц (мг/мл)	% HMW по данным SEC		
	5°C 6M	25°C 6M	35°C 3M
100	0,9	1,3	1,6
120	0,9	1,4	1,7
120	0,9	1,4	1,8
175	1,2	3	6,3

[0956] Влияние концентрации сахарозы

[0957] Диапазон изученных концентраций сахарозы составлял от 0 до 400 мМ, с композицией состава в центральной точке 120 мг/мл Nivo, 20 мМ гистидина, 50 мкМ

DTPA, 5 мМ Met, 2000 Ед/мл rHuPH20, 0,05% масс./об. PS80 при pH 6,0. Конечные значения HMW по данным SEC при различных концентрациях сахарозы для конечного момента времени для данного стрессового состояния сведены в таблицу 89. Низкие уровни сахарозы имеют более низкую стабильность. Повышенные значения HMW не вызывают беспокойства в диапазоне от 10 до 400 мМ сахарозы.

Таблица 89: Исследование 2 Высокомолекулярные соединения по данным SEC для последней временной точки в каждом стрессовом состоянии, изученном для различных концентраций сахарозы. Композиция включает: 120 мг/мл Nivo, 20 мМ гистидина, 250 мМ сахарозы, 0,05% масс./об. PS80 и 2000 Ед/мл rHuPH20 при pH 6,0.

Сахароза (мМ)	% HMW по SEC		
	5°C 6M	25°C 6M	35°C 3M
0	1	1,9	2,3
10	1	1,7	2,2
250	0,9	1,4	1,7
250	0,9	1,4	1,8
400	0,9	1,2	1,6

[0958] Влияние концентрации PS80

[0959] Изученный диапазон концентрации PS80 составлял от 0 до 0,10 масс./об. PS80 с композицией состава в центральной точке 120 мг/мл Nivo, 20 мМ гистидина, 250 мМ сахарозы, 50 мкМ DTPA, 5 мМ Met, 2000 Ед/мл rHuPH20, 0,05% масс./об. PS80, при pH 6.0. Конечные значения HMW по данным SEC при различных концентрациях PS80 были представлены в таблице 90 для конечной временной точки для данного стрессового состояния. Наблюдаемые значения HMW являются постоянными в диапазоне изученных композиций составов.

Таблица 90: Исследование 2 Высокомолекулярные соединения по данным SEC для последней временной точки в каждом из исследованных стрессовых условий при различных концентрациях PS80. Композиция включает: 120 мг/мл Nivo, 20 мМ гистидина, 250 мМ сахарозы, 50 мкМ DTPA, 5 мМ Met и 2000 Ед/мл rHuPH20 при pH 6,0.

PS80 (%)	% HMW по данным SEC		
	5°C 6M	25°C 6M	35°C 3M
0	0,9	1,4	1,7
0,01	0,9	1,4	1,7
0,05	0,9	1,4	1,7
0,05	0,9	1,4	1,8
0,10	0,9	1,4	1,7

[0960] Влияние заполненного азотом пространства над жидкостью

[0961] Чтобы понять преимущества состава, заполненное азотом свободное пространство над жидкостью было использовано для определения его воздействия на HMW во время окислительного стресса, а также термического стресса. Исследовались два состава с композицией состава в центральной точке 120 мг/мл Nivo, 20 мМ гистидина, 250 мМ сахарозы, 50 мкМ DTPA, 5 мМ Met, 2,000 Ед/мл rHuPH20, при pH 6.0 и условие без DTPA и Met: 120 мг/мл Nivo, 20 мМ гистидина, 250 мМ сахарозы, 2000 Ед/мл rHuPH20, 0,05% масс./об. PS80 при pH 6.0. Конечное количество HMW, определенное с помощью SEC для данных двух составов с заполненным азотом и воздухом пространством над жидкостью приведено в таблице 91 для конечной временной точки для данного стрессового состояния.

Таблица 91: Исследование 2 Высокомолекулярные соединения по данным SEC для последней временной точки в каждом из исследованных стрессовых условий для двух составов с азотом и без азота в пространстве над жидкостью. Композиция центральной точки: 120 мг/мл Nivo, 20 мМ гистидина, 250 мМ сахарозы, 50 мкМ DTPA, 5 мМ Met и 2000 Ед/мл rHuPH20 при pH 6,0. 0 DTPA 0 Met означают удаление обоих антиоксидантов (DTPA и Met) из состава центральной точки.

Состав -	% HMW по данным SEC					
Пространство над жидкостью	5°C 6M	25°C 6M	35°C 3M	RT/30 3M	RT/RL 1M	MPL 3M
Центральная точка-Воздух	0,9	1,4	1,7	1,2	1,9	1,5
Центральная точка - N_2	1	1,4	1,7	1,2	1,5	1,5
0 DTPA 0 Met - Воздух	1	2,6	3,3	1,6	2,3	3,3
0 DTPA 0 Met - N_2	1	1,7	2,4	1,4	1,7	3

[0962] Данные показывают явное преимущество состава центральной точки как с DTPA, так и с Met по сравнению с составом без DPTA и Met. В тех случаях, когда не добавляются антиоксиданты («жертвуемый» (расходуемый) агент и хелатор), преимуществом является наличие азота в пространстве над жидкостью. Интересным является небольшое различие в поведении состава центральной точки в условиях RT/RL. Здесь пространство над жидкостью, заполненное азотом, помогает уменьшить образование HMW. Однако в условиях MPL азот в пространстве над жидкостью не влияет на образование HMW, когда присутствуют как хелатирующий агент, так и «жертвуемый» агент. Состав, содержащий как «жертвуемый» агент, так и хелатор,

способен защитить от образования HMW в результате окислительного стресса, вызванного слабым светом (3 дня), пероксидом и металлами по сравнению с отсутствием «жертвуемого» или хелатирующего агента.

[0963] Статистическая модель: конечная временная точка для составов с концентрацией 50 мкМ DTPA при pH 6

[0964] Статистические модели оценивали для суммарного % HMW. Из-за небольших/незначительных эффектов, наблюдаемых в большинстве стрессовых условий, статистические модели были разработаны только для подмножества стрессовых условий. Были также исследованы различные смешанные модели (не показаны), предполагающие линейную модель для %HMW в зависимости от времени (дней). Из-за конструктивных ограничений ограниченное число степеней свободы для оценки меж- и внутрисоставной изменчивости и %HMW среднеквадратичной ошибки (RMSE) приблизительно от 0,15 до 0,25% средних доверительных интервалов для ключевых сравнений существенно перекрывались для стрессовых условий в момент времени 12 недель. По результатам первого исследования средняя разница в %HMW составила 0,125% для двух ключевых сравнений составов (см. выше). Все анализы были выполнены с использованием JMP 15.2.0.

[0965] Тщательная оценка условий 25°C, 35°C и MPL дает от слабых до выраженных доказательств положительного эффекта DTPA «нет-да» для данных трех стрессовых условий в течение, по меньшей мере, самой продолжительного момента времени при pH 6. Более того, эффект метионина «нет-да» при 0-5 мМ наблюдался для составов без DTPA с pH 6. Чтобы упростить представление результатов, были разработаны статистические модели для каждого из данных трех стрессовых условий только в последний измеренный момент времени. Значения RMSE для %HMW, составляющие приблизительно от 0,15 до 0,25% в различных статистических моделях, наблюдались даже при ограничении составами только с pH 6. Чтобы еще больше уменьшить потребность в потенциально неадекватных эмпирических моделях, приведены только статистические результаты при 50 мкМ DTPA. Сложность и/или нелинейность модели, например, из-за включения выборок без DTPA, могут увеличить остаточную дисперсию для неверно заданных или недоопределенных моделей.

[0966] На ФИГ. 20 показан полученный с помощью SEC график %HMW в зависимости от концентрации метионина при трех последних стрессовых условиях с оценкой тенденции по плавной кривой.

[0967] Для 3-месячных образцов при 35°C повторная изменчивость велика по

сравнению с оставшимся сигналом. Только три различных значения были получены для измерений при 25°C в течение 6 месяцев. Для данных двух условий термического стресса очевидна небольшая тенденция или ее отсутствие. Почти линейная тенденция наиболее очевидна для комбинированного окислительного стресса и условия MPL через 3 месяца.

[0968] Простую линейную регрессию оценивали для каждого состояния, чтобы оценить силу наблюдаемой взаимосвязи (ФИГ. 21A-21C).

[0969] Только линейная регрессия условия комбинированного окислительного стресса (MPL) была значимой (p ~ 0,0088). Полученные данные свидетельствуют о явном преимуществе повышения концентрации метионина в присутствии 50 мкМ DTPA при этом состоянии окислительного стресса. Несоответствие модели не было обнаружено (криволинейная модель также была оценена с улучшенным соответствием, не показано), и среднее %HMW RMSE составляло примерно от 0,06 до 0,08% для всех трех регрессий. Прогнозируемый средний %HMW через 3 месяца для состава 50 мкМ DTPA – 0 мМ метионина составляет 1,73% (95% доверительный интервал 1,62–1,83); соответствующая оценка 50 мкМ DTPA – 5 мМ метионина составляет 1,63% (95% доверительный интервал 1,55–1,71). Средняя разница между данными оценками приблизительно равна средней разнице в 0,125%, наблюдаемой в первом исследовании (выше) между теми же двумя составами в условиях окислительного стресса MPL через 3 месяца.

[0970] Варианты зарядов

[0971] Варианты зарядов оценивали с использованием iCIEF. Подмножество образцов, с фокусом на преимущества наличия двух антиоксидантов, было подробно изучено, чтобы оценить влияние вариантов заряда на Nivo. Образцы были испытаны для временной точки 3 месяца в условиях окислительного стресса MPL и временной точки 3 месяца для термического стресса при 35°C. Результаты графически представлены на ФИГ. 22A-22B.

[0972] Процент кислотных веществ является самым высоким для условий без антиоксидантов (Нет). Метионин в отдельности имеет меньшую защиту, чем только DTPA или сочетание DTPA и метионина. Нет никакой разницы между составами, содержащими только DTPA, и составами, содержащими как DTPA, так и Met, при хранении при температуре 35°C. Небольшое улучшение можно наблюдать через 3 месяца при стрессе MPL в течение 3 месяцев.

[0973] CE-SDS

[0974] CE-SDS использовали для измерения уровня окисленных соединений Nivo. Подмножество образцов, с фокусом на преимущества наличия двух

антиоксидантов, было подробно изучено, чтобы оценить влияние состава на защиту Nivo от окисления. Испытывались образцы для временной точки 3 месяца в условиях окислительного стресса MPL и для временной точки 3 месяца при 35°C. Результаты для % площади основного пика представлены в таблице 92. Не обнаружено существенной разницы в площади основного пика между образцами по сравнению с исходными (T0) образцами. Никаких изменений в образовании LMW соединений в изученных условиях исследования не было обнаружено для всех изученных составов.

Таблица 92. Процент площади основного пика CE-SDS исследования 2 в зависимости от времени в условиях MPL и при нагрузке 35°C. Дублированные образцы готовили для составов с DTPA и Met, а также для образцов только с DTPA. Составы содержали DTPA в концентрации 50 мкМ и Met в концентрации 5 мМ. Все составы также содержат 120 мг/мл Nivo, 20 мМ гистидина, 250 мМ сахарозы, 0,05% масс./об. PS80, 2000 Ед/мл rHuPH20 при pH 6,0.

	CE-SDS Главный пик (%)		
Состав	T0	35CT3M	MPL3M
DTPA и Met	97,0	97,2	98,5
DTPA и Met	97,0	97,6	97,6
DTPA	97,0	96,7	98,2
DTPA	96,9	98,2	97,9
Met	96,7	96,7	98,0
Нет	96,3	96,8	98,0

[0975] Активность фермента

[0976] Для определения стабильности фермента rHuPH20 была измерена активность фермента. Подмножество образцов, с фокусом на преимущества наличия двух антиоксидантов, было подробно изучено для оценки влияния состава на защиту фермента от окисления - основного механизма деградации. Образцы были протестированы для временной точки 3 месяца в условиях окислительного стресса MPL и временной точки 3 месяца при 35°C. Результаты представлены в виде графиков на ФИГ. 23A-23B.

[0977] Деградация фермента была самой высокой для условий без антиоксидантов (нет). Метионин в отдельности дает меньшую защиту, чем только DTPA. При использовании DTPA и метионина обеспечивается наилучшая защита. Преимущества были более выражены в условиях стресса MPL, но последовательная тенденция наблюдалась как в условиях 35°C, так и в условиях MPL. Полученные

результаты согласуются с тем, что наблюдалось в исследовании 1, описанном выше.

[0978] Стабильность PS80

[0979] Стабильность PS80 была измерена для определения стабильности ключевого вспомогательного вещества, PS80. Подмножество образцов, с фокусом на преимущества наличия двух антиоксидантов, было подробно изучено для оценки влияния состава на защиту PS80 от окисления. Образцы были протестированы для временной точки 3 месяца в условиях окислительного стресса MPL и временной точки 3 М месяца при 35°C. Результаты представлены в виде графиков на ФИГ. 24A-24B.

[0980] Деградация PS80 была высокой, и уровни PS80 падают до нуля для состояния без DTPA (данные не показаны) в условиях стресса MPL. Различие между "нет" и "только Met" можно наблюдать для условия 35°C во временной точке 3 месяца. Кинетика деградации PS80 наиболее быстрая для условий без антиоксидантов (нет), за которыми следуют условия только с метионином. В условиях стресса MPL и 35°C наблюдается защита PS80, сопоставимая между составами, содержащими только DTPA, и составами, содержащими DTPA и метионин. Ключевой особенностью с точки зрения стабильности PS80 было включение DTPA. Полученные результаты согласуются с тем, что наблюдалось в исследовании 1.

[0981] Диапазоны составов и альтернативные вспомогательные вещества

[0982] Исследование 2 было проведено для определения воздействия и диапазонов, в которых преимущества композиции состава наблюдаются в первую очередь с помощью SEC. Составы подвергали термическому стрессу (5, 25, 35°C) отдельно или термическому и окислительному стрессу (MPL, RT/RL).

[0983] На основании данного исследования диапазоны композиции состава, при которых стабильность сохраняется лучше всего, следующие: pH: 5,2 - 6,5 гис; гистидин: 15 - 100 мМ; DTPA 10 - 200 мкМ (альтернативно: 100 мкМ EDTA); Met: 1 - 20 мМ (альтернативно: 10 мМ Trp); rHuPH20: 0 - 5000 Ед/мл; PS80: 0,01 - 0,1 % масс./об. (альтернативно: PS20 0,05% масс./об. и полоксамер 0,2 мг/мл); сахар: 10 - 400 мМ сахарозы; и белок: 100-175 мг/мл.

[0984] Состав в центральной точке представляет собой: 120 мг/мл Nivo, 20 мМ гистидина, 250 мМ сахарозы, 5 мМ Met, 50 мкМ DTPA, 0,05% масс./об. полисорбата 80 при pH 6,0 с 2000 Ед/мл rHuPH20.

[0985] Гистидиновый буфер является критическим в составе - составы при том же pH с использованием сукцината в качестве буфера не продемонстрировали достаточной стабильности (Таблица 91). Гистидин обладает стабилизирующим

действием, которое проявляется в увеличении стабильности при более высоких концентрациях. В данном исследовании изучался гистидин в концентрации до 100 мМ (Таблица 87), но ожидается, что более высокие концентрации гистидина также будут стабильными. При низких концентрациях гистидина стабильность снижается. В частности, при концентрации гистидина менее 10 мМ % HMW увеличивается. Диапазон от 15 до 100 мМ является критическим для сведения к минимуму образования HMW.

[0986] Диапазон pH также имеет решающее значение - при более высоком pH после pH 6,5 наблюдается повышение влияния HMW на стабильность (Таблица 85).

[0987] Nivo в отсутствие сахарозы приводит к несколько более высоким уровням образования HMW (Таблица 89). Сахароза в диапазоне от 10 до 400 мМ демонстрирует хорошую стабильность.

[0988] Уровни PS80, исследованные здесь в пределах от 0 до 0,1%, защищали Nivo от образования HMW (Таблица 90). Альтернативные поверхностно-активные вещества: PS20 (0,05% масс./об.) и полоксамер (0,2 мг/мл) продемонстрировали хорошую защиту Nivo от образования HMW (Таблица 81).

[0989] Добавление фермента в диапазоне от 0 до 5000 Ед/мл не влияет на стабильность Nivo (Таблица 80).

[0990] Данный отчет демонстрирует необходимость использования двух антиоксидантов. Один «жертвуемый» агент (Met) необходим в дополнение к хелатирующему агенту (DTPA). В частности, данные два антиоксиданта работают лучше, чем альтернативные им вспомогательные вещества (Таблица 82). Для подтверждения превосходства выбранного вспомогательного вещества эффективность альтернативных окислителей была проверена при более высоких концентрациях. Замена 5 мМ Met на 10 мМ Trp приводит к увеличению HMW как в условиях RT/RL, так и в условиях стресса MPL. Замена 50 мкМ DTPA на 100 мкМ EDTA ведет себя сопоставимо в условиях RT/RL, но показывает более высокий уровень образования HMW при ускоренном нагревании и в условиях стресса MPL. Комбинированный состав имеет защиту от окисления, которая не требует заполненного азотом пространства над жидкостью для защиты от MPL стресса (Таблица 91).

[0991] Уровни DTPA в интервале от 10 до 200 мкМ продемонстрировали сопоставимую стабильность (Таблица 83). Наличие DTPA в минимальной концентрации 10 мкМ является критическим, но более высокие уровни DTPA не

увеличивают стабильность Nivo.

[0992] Увеличение Met продемонстрировало приемлемую стабильность в диапазоне уровней от 1 до 20 мМ (Таблица 84). Для случая Met была построена статистическая модель, и для стрессового состояния MPL линейная регрессия оказалась значимой (выше). Полученный результат свидетельствует о том, что наличие Met имеет явные преимущества, и более высокие концентрации Met благоприятны для борьбы со стрессом MPL.

[0993] Ранжирование

[0994] Преимущество наличия обоих антиоксидантов было продемонстрировано путем мониторинга: стабильности Nivo с помощью SEC и iCIEF, стабильности rHuPH20 путем изучения активности фермента и стабильности PS80 путем изучения уровня PS80. Данная часть исследования была сосредоточена на подмножестве образцов, сфокусированных на необходимости использования обоих антиоксидантов (оба, в сравнении только с одним, в сравнении при отсутствии обоих). Для каждого из данных атрибутов качества в таблице 93 приведены показатели для состава и ранжирование от лучшего состава к худшему (сверху вниз).

Таблица 93: Исследование 2 - Изучение атрибутов качества, по которым можно было отличить составы, и ранжирование данных составов

Атрибут качества	Nivo SEC % HMW	Nivo iCE %кисл.	rHuPH20 Активность фермента	PS80 стабильность
(лучший)	Met + DTPA	Met + DTPA	Met + DTPA	Met + DTPA =
DTPA				
Ранжирование	DTPA	DTPA	DTPA	Met
	Met	Met	Met	Нет
(худший)	Нет	Нет	Нет	

[0995] Стабильность Nivo по данным SEC показывает увеличение HMW в ответ на окислительный стресс (MPL). Увеличение HMW сводится к минимуму присутствием антиоксидантов. Комбинация Met и DTPA демонстрирует лучшую стабильность по сравнению с стабильностью в присутствии одной только DTPA,

которая превосходит стабильность в присутствии Met, которая превосходит стабильность составов, не содержащих ни DTPA, ни Met. Полученные результаты согласуются с исследованием 1.

[0996] Варианты зарядов (выше) показывают, что % увеличения кислотных веществ был самым высоким в отсутствии как DTPA, так и Met. Использование только Met показывает немного более медленный темп увеличения как в условиях термического (35°C), так и окислительного (MPL) стресса. Использование только DTPA сравнимо с использованием как DTPA, так и Met в условиях термического стресса; но в условиях MPL наблюдается незначительное преимущество обоих составов по сравнению с одним DTPA.

[0997] Ферментативная активность rHuPH20 снижается в ответ на термический и окислительный стрессы. Преимущество композиции состава лучше всего проявляется при окислительном стрессе (MPL). Ферментативная активность лучше всего сохранялась в присутствии Met и DTPA. Наблюдалось заметное снижение активности фермента по сравнению с активностью в присутствии только DTPA, заметное снижение по сравнению с активностью в присутствии только Met, заметное снижение по сравнению с активностью в отсутствии Met и DTPA. Такое поведение было характерно и для условий термического стресса (35°C), но разница между одним DTPA и обоими (DTPA и Met) была меньше.

[0998] Защита PS80 наблюдалась в условиях, в которых присутствовал хелатирующий агент (DTPA). Met не защищал PS80 от деградации.

[0999] Основные результаты исследования окислительного стресса (MPL - комбинация металла, пероксида и 3 дней света в дополнение к термическому стрессу при 30°C) с различными комбинациями составов показывают, что преимущество было у состава с 50 мкМ DTPA и 5 мМ Met. Стабильность при использовании только одного из данных антиоксидантов была менее высокой, чем при использовании как хелатирующего агента, так и «жертвуемого» антиоксиданта. Полученные результаты соответствуют результатам исследования 1.

[1000] Результаты - Исследование 3

[1001] Целью данного исследования было понять поведение молекулы в различных компонентах упаковки (предварительно заполненный шприц (PFS) и патч-насос). Кроме того, было проведено несколько вариаций композиции состава по сравнению с исходной композицией, чтобы определить диапазоны, в которых могут наблюдаться преимущества данного состава. К ним относятся:

i. Диапазон гистидина от 15 до 100 мМ. Исследование 2 показало увеличение HMW при низкой концентрации гистидина 10 мМ.

ii. Более широкий диапазон уровня фермента от 0 до 10000 Ед/мл по сравнению с исследованием 2, охватывающим только до 5000 Ед/мл.

iii. Более широкий диапазон концентрации белка от 100 до 200 мг/мл. Исследование 2 охватывало до 150 мг/мл.

[1002] В данном исследовании также использовались следующие подтверждающие диапазоны состава в случае, когда фермент не присутствует в составе: pH: 5,2 - 6,5 гис; Гистидин: 15 - 100 мМ; DTPA: 10 - 200 мкМ (альтернативно: 100 мкМ EDTA); Met: 1 - 20 мМ (альтернативно: 10 мМ Tryp); PS80: 0.01 - 0,1% масс./об. (альтернативно: PS20 и полоксамер 0,2 мг/мл); сахар: 10 - 400 мМ сахароза (альтернативно: 10% сорбит и трегалоза); белок: 100-200 мг/мл; и первичная упаковка: Флакон, PFS (предварительно заполненный шприц) и патч-насос.

[1003] Обратите внимание, что в данном исследовании сорбит и трегалоза были правильно добавлены в буфер TFF, что было упущено в исследовании 2. Поскольку фермент не оказывает влияния на образование HMW, полученные результаты также будут использованы для понимания поведения данных альтернативных сахаров с ферментом.

[1004] В результате было получено 46 составов, где, как и в исследовании 2, составы изучались при условии изменения за один раз одного фактора, при этом все остальные факторы соответствовали уровню целевой композиции. В данном исследовании флаконы и патч-насосы изучались в основном при концентрации 120 мг/мл, и PFS - при целевой концентрации 150 мг/мл Nivo. Композиция целевого состава: 20 мМ гистидина, 250 мМ сахарозы, 50 мкМ DTPA, 5 мМ Met, 2000 Ед/мл rHuPH20, 0,05% масс./об. PS80 при pH 6,0 с воздушным пространством. Обратите внимание, что в дизайне были продублированы независимые препаративные формы для условий с центральной точкой и условий с 50 мкМ DTPA и без Met.

[1005] В данном исследовании стабильность Nivo изучали с помощью SEC, и из-за отсутствия данных по частицам из исследования 3 анализ частиц был проведен для отдельных временных точек (MPL 3M, RT30 3M, 5C 6M и 25C 6M).

[1006] Эксклюзионная хроматография

[1007] Эксклюзионная хроматография была основным инструментом, используемым для контроля стабильности ниволумаба.

[1008] Воспроизводимость и воздействие на ферменты

[1009] Дублированные и независимые препаративные формы были включены в дизайн для условий центральной точки и условий 0 Met, как это было сделано для исследования 2; но для исследования 3 состав не включал фермент. Конечное количество HMW по данным SEC в зависимости от стресса и временной точки для двух составов представлено в таблице 94 для исследования 2 и 3. Полученные данные показывают воспроизводимость результатов исследований 2 и 3, а также для независимых препаратов в рамках одного исследования. Данные постоянно находятся в пределах 0,1% HMW друг от друга.

Таблица 94: Исследование 2 и 3 - Высокомолекулярные соединения по данным SEC для последней временной точки в каждом из исследованных стрессовых условий для дублированных образцов - составы центральной точки и 0 Met. Композиция состава центральной точки: 120 мг/мл Nivo, 20 мМ гистидина, 250 мМ сахарозы, 50 мкМ DTPA, 5 мМ Met и 2000 Ед/мл rHuPH20 при pH 6,0. Состав 0 Met: 120 мг/мл Nivo, 20 мМ гистидина, 250 мМ сахарозы, 50 мкМ DTPA, 0,05% масс./об. PS80 при pH 6,0.

	Описание	Фермент	% HMW по SEC				
				25°C		RT30	MPL
		(Ед/мл)	(				
Иссл. - состав			5°C 6M	6M	35°C 3M	3M	3M
Иссл. 3 - 12	0 Met	0	1,0	1,5	1,8	1,3	1,9
Иссл. 3 - 13	0 Met	0	1,0	1,5	1,8	1,3	1,8
Иссл. 2 - 21	0 Met	2000	0,9	1,5	1,8	1,3	1,8
Иссл. 2 - 29	0 Met	2000	0,9	1,5	1,8	1,3	1,8
Иссл. 3 - 10	Центр	0	1,0	1,5	1,7	1,2	1,5
Иссл. 3 - 11	Центр	0	1,0	1,4	1,7	1,2	1,5
Иссл. 3 - 5	Центр	2000	1,0	1,5	1,7	1,2	1,5
Иссл. 2 - 15	Центр	2000	0,9	1,4	1,7	1,2	1,5
Иссл. 2 - 28	Центр	2000	0,9	1,4	1,8	1,3	1,6

Данное исследование, как и исследование 2 (таблица 80), показывает, что стабильность Nivo не влияет на стабильность фермента (таблица 95) на всех уровнях фермента (0 - 10 000 Ед/мл). В ходе исследования 3 были протестированы дублированные композиции с ферментом и без него. Полученные результаты были очень последовательными (таблица 95, таблица 96, таблица 97, таблица 98, таблица 99, таблица 100, ФИГ. 25A и

ФИГ. 25B) и позволяют авторам изобретения с уверенностью перенести полученные данные на другие условия с ферментом и без него.

Таблица 95: Исследование 3 - Высокомолекулярные соединения по данным SEC для последней временной точки в каждом из исследованных стрессовых условий при различном уровне фермента. Композиция состава: 120 мг/мл Nivo, 20 мМ гистидина, 250 мМ сахарозы, 50 мкМ DTPA, 5 мМ Met и 2000 Ед/мл rHuPH20 при pH 6,0.

Фермент	% HMW по SEC					
(Ед/мл)	T0	5°C 6M	25°C 6M	35°C 3M	RT30 3M	MPL 3M
0	0,8	1,0	1,5	1,7	1,2	1,5
0	0,8	1,0	1,4	1,7	1,2	1,5
2000	0,8	1,0	1,5	1,7	1,2	1,5
10000	0,8	1,0	1,5	1,7	1,2	1,5
10000	0,8	1,0	1,5	1,7	1,2	1,5

[1010] Первичная упаковка

[1011] В данном исследовании оценивались три различных типа первичной упаковки: флакон, предварительно заполненный шприц и патч-насос. Данные для различных первичных упаковок приведены в таблице 96 для концентрации белка 120 мг/мл в композиции состава центральной точки: 20 мМ гистидин, 250 мМ сахароза, 50 мкМ DTPA, 5 мМ Met, 0,05% масс./об. PS80 при pH 6,0. Не было обнаружено разницы в образовании HMW из-за различий в первичной упаковке.

Таблица 96: Исследование 3 - Высокомолекулярные соединения по данным SEC для последней временной точки в каждом из исследованных стрессовых условий для варьируемой первичной упаковки при 120 мг/мл Nivo.

Композиция состава: 20 мМ гистидин, 250 мМ сахароза, 50 мкМ DTPA, 5 мМ Met, 0,05% масс./об. PS80 при pH 6,0

Первичная Упаковка	Фермент (Ед/мл)	% HMW по данным SEC					
		T0	5°C 6M	25°C 6M	35°C 3M	RT30 3M	MPL 3M
Флакон	0	0,8	1,0	1,5	1,7	1,2	1,5
Флакон	0	0,8	1,0	1,4	1,7	1,2	1,5
Флакон	2000	0,8	1,0	1,5	1,7	1,2	1,5
PFS	0	0,7	1,0	1,5	1,7	1,2	1,5
PFS	2000	0,8	1,0	1,5	1,7	1,2	1,5
Патч-насос	0	0,8	0,9	1,4	N/A*	1,2	1,4
Патч-насос	2000	0,8	0,9	1,4	N/A*	1,2	1,4

* В связи с ограниченным количеством патч-насосов имеются ограниченные данные по патч-насосу.

[1012] Чтобы понять, существуют ли какие-либо обязательства в связи с компонентами PFS, были протестированы два дополнительных условия: одно с обогащением вольфрамом (W) в концентрации 1 ppm и заполнение в шприц BD Neopack с двухкратным количеством силиконового масла, которое содержится в стандартных шприцах BD Neopack. Значения высокомолекулярной массы в последней временной точке для данного стрессового состояния приведены в таблице 97 при концентрации 150 мг/мл снова с 20 мМ гистидина, 250 мМ сахарозы, 50 мкМ DTPA, 5 мМ Met, 0,05% масс./об. PS80 при pH 6,0. Не было обнаружено увеличения HMW под действием вольфрама или силиконового масла.

Таблица 97: Исследование 3 - Высокомолекулярные соединения по данным SEC для последней временной точки в каждом из исследованных стрессовых состояний при использовании компонентов PFS при 150 мг/мл Nivo. Композиция состава: 20 мМ гистидин, 250 мМ сахароза, 50 мкМ DTPA, 5 мМ Met, 0,05% масс./об. PS80 при pH 6,0

Описание	Фермент (Ед/мл)	% HMW по SEC					
				25°C		RT30	MPL
		T0	5°C 6M	6M	35°C 3M	3M	3M
0	добавка W PFS	0,8	1,1	1,7	1,9	1,4	1,6
0	2X Si масло PFS	0,8	1,1	1,7	1,9	1,4	1,7
0	PFS	0,8	1,1	1,7	2,0	1,4	1,7
2000	добавка W PFS	0,8	1,1	1,7	1,9	1,4	1,7
2000	2X Si масло PFS	0,8	1,1	1,7	1,9	1,4	1,7
2000	PFS	0,8	1,1	1,7	1,9	1,4	1,7

[1013] Концентрация белка

[1014] Первичная упаковка и уровни фермента не влияют на образование HMW, как обсуждалось выше. Данные по образованию HMW в зависимости от упаковки и уровня фермента в композиции состава центральной точки при диапазоне концентраций белка от 100 до 200 мг/мл были сведены в таблицу 98. Композиция

состава центральной точки включает 20 мМ гистидина, 250 мМ сахарозы, 50 мкМ DTPA, 5 мМ Met, 0,05% масс./об. PS80 при pH 6,0. Более высокие концентрации белка показали более высокий уровень образования HMW, что согласуется с другими исследованиями при более высокой концентрации белка и данными исследования 2 (Таблица 88).

Таблица 98: Исследование 3 - Высокомолекулярные соединения по данным SEC для последней временной точки в каждом из исследованных стрессовых условий для различных концентраций белка. Композиция состава: 20 мМ гистидина, 250 мМ сахарозы, 50 мкМ DTPA, 5 мМ Met, 0,05% масс./об. PS80 при pH 6,0

Первичная упаковка	Фермент (Ед/мл)	Белок Конц. (мг/мл)	% HMW по SEC					
Первичная			T0	5°C 6M	25°C 6M	35°C 3M	RT30 3M	MPL 3M
Флакон	0	100	0,7	0,9	1,3	1,5		
Флакон	0	120	0,8	1,0	1,5	1,7	1,2	1,5
Флакон	0	120	0,8	1,0	1,4	1,7	1,2	1,5
Флакон	2000	120	0,8	1,0	1,5	1,7	1,2	1,5
PFS	0	120	0,7	1,0	1,5	1,7	1,2	1,5
PFS	2000	120	0,8	1,0	1,5	1,7	1,2	1,5
PFS	0	150	0,8	1,1	1,7	2,0	1,4	1,7
PFS	2000	150	0,8	1,1	1,7	1,9	1,4	1,7
PFS	0	165	0,8	1,1	1,8	2,1	1,5	1,8

PFS	2000	165	0,9	1,1	1,8	2,0	1,4	1,8
Флакон	0	200	1,0	1,3	2,1	2,5		
PFS	0	200	1,0	1,3	2,2	2,5		
PFS	2000	200	1,0	1,3	2,2	2,5		
Флакон	2000	200	1,0	1,3	2,1	2,5		

[1015] Альтернативные вспомогательные вещества

[1016] В исследовании 3 в качестве альтернативного сахара к 250 мМ (8,6%) сахарозы были изучены два альтернативных сахара: 10% сорбита и 10% трегалозы. Результаты, наряду с результатами использования альтернативного поверхностно-активного вещества PS80 при 0,05% масс/об, а именно 0,05% масс/об PS20 и 0,2 мг/мл полоксамера, были изучены и представлены в таблице 99. В таблице представлены результаты исследования 2 и исследования 3, где разница заключается в том, что в исследовании 2 содержалось 2000 Ед/мл rHuPH20, тогда как в исследовании 3 rHuPH20 отсутствовал. Другие вспомогательные вещества были на уровне целевой композиции: с целевой композицией состава 120 мг/мл Nivo, 20 мМ гистидина, 250 мМ сахарозы, 50 мкМ DTPA, 5 мМ Met, 0,05% масс./об. PS80 при pH 6,0. В ходе подготовки образцов в исследовании 2 была допущена ошибка в составах с трегалозой и сорбитом в качестве альтернативного вспомогательного вещества, поэтому данные с ферментом не представлены.

Таблица 99: Исследование 2 и 3 - Высокомолекулярные соединения по данным SEC для последней временной точки в каждом из исследованных стрессовых условий для альтернативных вспомогательных веществ. Условия исследования 2 - 2000 Ед/мл rHuPH20, условия исследования 3 - 0 Ед/мл rHuPH20. Композиция центральной точки: 120 мг/мл Nivo, 20 мМ гистидина, 250 мМ сахарозы, 50 мкМ DTPA, 5 мМ Met, 0,05% масс./об. PS80, при pH 6,0

Альтернативное вспомогательное вещество	% HMW по данным SEC					
	5°C 6M		25°C 6M		35°C 3M	
	Иссл. 2	Иссл. 3	Иссл. 2	Иссл. 3	Иссл. 2	Иссл. 3
Центр	0,9	1,0	1,4	1,5	1,7	1,7
Центр	0,9	1,0	1,4	1,4	1,8	1,7
PS20	0,9	0,9	1,3	1,4	1,7	1,7

Полоксамер	0,9	1,0	1,3	1,5	1,7	1,7
Сорбит		1,3		1,9		2,1
Трегалоза		1,6		2,2		2,5
Сукцинат	1,3	1,5	3,2	3,2	6,8	5,7

[1017] В качестве альтернативного вспомогательного вещества PS80 может быть заменен на PS20 или полоксамер с минимальным влиянием на стабильность. Данные результаты совпадают в двух исследованиях.

[1018] Наличие гистидина в качестве буферного агента было критически важным для стабильности Nivo, и его нельзя заменить сукцинатом. При использовании сукцинатного буфера наблюдалось значительное увеличение количества HMW соединений во всех изученных условиях термического стресса (5°C 6M, 25°C 6M и 35°C 3M), и данные результаты снова совпали в двух исследованиях.

[1019] Данные по сахару свидетельствуют о том, что сахароза обладает превосходным стабилизирующим эффектом по сравнению с сорбитом или трегалозой.

[1020] В качестве хелатора, альтернативного для 50 мкМ DTPA, было использовано 100 мкМ EDTA, как это было сделано в исследовании 2. DTPA является лучшим хелатирующим агентом, поэтому здесь изучался более высокий уровень EDTA. Аналогично, в качестве альтернативного «жертвуемого» агента для 5 мМ метионина использовали 10 мМ триптофана. Поскольку добавление хелатора и «жертвуемого» окислителя может повлиять на защиту от окисления, их исследовали как в условиях термического, так и окислительного стресса. Конечные количества HMW по данным SEC с использованием данных альтернативных вспомогательных веществ представлены в таблице 100 для конечной временной точки в условиях стресса для исследований 2 и 3, где разница заключается в том, что в исследовании 2 использовалось 2000 Ед/мл rHuPH20, тогда как в исследовании 3 не использовалась rHuPH20. Композиция состава включала 120 мг/мл Nivo, 20 мМ гистидина, 250 мМ сахарозы, 0,05% масс./об. PS80 при pH 6,0.

[1021] Результаты двух исследований были сопоставимы друг с другом. Исключением является условие с 0 DTPA и 0 Met, где наблюдалась большая вариабельность в том, как быстро происходит такое автокаталитическое увеличение HWM. Табличные значения % HMW через 3 месяца при стрессе MPL ясно показали уникальное преимущество использования DTPA в двух исследованиях, а также то,

что она является лучшим хелатором по сравнению с EDTA. Аналогично, данные показали, что Met превосходит Trp. Увеличение % HMW лучше всего контролировалось при использовании 5 мМ Met и 50 мкМ DTPA. Полученные результаты совпали во всех трех исследованиях.

[1022] Данные исследования показали уникальное и благотворное влияние гистидина и сахарозы в сочетании с Met и DTPA на стабильность Nivo.

Таблица 100: Исследование 2 и 3 - Высокомолекулярные соединения по данным SEC для последней временной точки в каждом из исследованных стрессовых условий для альтернативных вспомогательных веществ DTPA и Met. Композиция включает: 120 мг/мл Nivo, 20 мМ гистидина, 250 мМ сахарозы, 0,05% масс./об. PS80, при pH 6,0. Условия исследования 2 содержат 2000 Ед/мл rHuPH20, условия исследования 3 содержат 0 Ед/мл rHuPH20.

Альтернативное вспомогательное вещество	% HMW по SEC									
	5°C 6M		25°C 6M		35°C 3M		RT30 3M		MPL 3M	
	Исследование	Исследование	Исследование	Исследование	Исследование	Исследование	Исследование	Исследование	Исследование	Исследование
	2	3	2	3	2	3	2	3	2	3
5 мМ Мет 50 мкм DTPA	0,9	1,0?	1,4	1,5	1,7	1,7	1,2	1,2	1,5	1,5
5 мМ Мет 50 мкм DTPA	0,9	1,0?	1,4	1,4	1,8	1,7	1,3	1,2	1,6	1,5
10 мМ Trp 50 мкм DTPA	0,9	0,9	1,4	1,4	1,8	1,7	1,2	1,2	1,9	1,9
5 мМ Мет 100 мМ EDTA	0,9	1,0?	1,5	1,5	1,8	1,8	1,3	1,3	2,1	2
0 мМ Мет 0 мкМ DTPA	1,0?	1,0?	1,7	2,6	2.1	3.2	1,3	1,6	3,7	4
0 мМ Мет 50 мМ DTPA	0,9	1.0?	1,5	1,5	1,8	1,8	1,3	1,3	1,8	1,8
0 мМ Мет 50 мМ DTPA	0,9	1.0?	1,5	1,5	1,8	1,7	1,3	1,3	1,8	1,7

[1023] Диапазоны вспомогательных веществ

[1024] Как и в исследовании 2, в исследовании 3 изучались различные диапазоны вспомогательных веществ. Полученныые результаты были последовательны и согласуются с результатами исследования 2, как было показано в исследовании 2, где влияние концентрации Met оказывало благоприятное воздействие при увеличении концентрации. Результаты всех трех исследований

показаны на ФИГ. 25А. В исследовании 1 оценивались только значения 0 и 5 мМ Met, исследование 2 было посвящено условиям с ферментом, и исследование 3 фокусировалось на условиях без фермента. Во всем данном примере было показано, что фермент не влияет на стабильность Nivo, и данный вывод был вновь продемонстрирован здесь.

[1025] График регрессии со всеми тремя исследованиями показан на ФИГ. 25В. Все три исследования очень хорошо накладываются друг на друга. Линейное приближение для эффекта от 0 до 5 мМ метионина составило 0,19% HMW при композиции центральной точки: 120 мг/мл Nivo, 20 мМ гистидина, 50 мкМ DTPA, 250 мМ сахарозы, 0,05% масс./об. PS80 при pH 6,0.

[1026] В исследованиях 2 и 3 диапазоны композиции состава, в которых стабильность сохранялась наилучшим образом, были следующими: pH: 5,2 - 6,5 гис; гистидин: 15 - 100 мМ; DTPA: 10 - 200 мкМ (альт: 100 мкМ EDTA); Met: 1 - 20 мМ (альт: 10 мМ Trp); rHuPH20: 0 - 5000 Ед/мл; PS80: 0,01 - 0,01 - 0,1% масс./об. (альт: PS20 0,05% масс./об. и полоксамер 0,2 мг/мл); Сахар: 10 - 400 мМ сахароза; Белок: 100-175 мг/мл; и Первичная упаковка: Флакон, PFS, патч-насос.

[1027] Композиция центральной точки была следующей: 120 мг/мл Nivo, 20 мМ гистидина, 250 мМ сахарозы, 5 мМ Met, 50 мкМ DTPA, 0,05% масс./об. полисорбата 80 при pH 6,0 с 2000 Ед/мл rHuPH20.

[1028] Диапазон pH для данного состава был критическим. После pH 6,5 наблюдалось увеличение HMW, и данный результат было характерен для исследований 2 и 3. На основании полученных данных было рекомендовано использовать приготовление состава с pH ближе к pH 6.

[1029] Гистидин в качестве буфера был критически важен в составе и оказывал стабилизирующее действие. Данные исследований 2 и 3 были согласованы. Сукцинат в качестве буфера не продемонстрировал достаточной стабильности. Более низкие концентрации гистидина приводили к более высокому уровню образования HMW. Вблизи уровня 15 мМ гистидина наблюдалось резкое понижение стабильности. В данном исследовании изучался гистидин до 100 мМ, но ожидается, что более высокие концентрации будут стабильными.

[1030] Диапазон ферментов от 0 до 10000 Ед/мл был изучен и не повлиял на стабильность Nivo. Полученный результат соответствовало результатам исследований 2 и 3.

[1031] Уровни PS80 от 0 до 0,1% масс./об. защищали Nivo от образования

HMW. Альтернативные поверхностно-активные вещества PS20 (0,05% масс./об.) и полоксамер (0,2 мг/мл) продемонстрировали хорошую защиту Nivo от образования HMW.

[1032] Nivo с уровнем сахарозы от 10 до 400 мМ продемонстрировал хорошую стабильность. В качестве альтернативного вспомогательного вещества трегалоза и сорбит показали более высокий уровень образования HMW по сравнению с сахарозой при хранении.

[1033] Влияние на стабильность, вызванное первичной упаковкой, не наблюдалось в протестированных флаконах, PFS и патч-насосах.

[1034] DTPA в диапазоне концентраций от 10 до 200 мкМ DTPA показал такую же стабильность. Присутствие даже на низком уровне 10 мкМ было достаточным для защиты Nivo. В исследованиях 2 и 3 не наблюдалось зависимости от концентрации.

[1035] Повышенные уровни Met продемонстрировали приемлемую стабильность в диапазоне от 1 до 20 мМ Met. Результаты были последовательными во всех исследованиях (ФИГ. 25B). Для случая Met была построена статистическая модель. Для стрессового состояния MPL линейная регрессия была признана значимой для исследований 2 и 3. Полученный результат показал, что наличие Met имеет явное преимущество и более высокие концентрации Met благоприятствуют стрессу MPL.

[1036] Твердые частицы

[1037] Исследование 2 не включало анализ твердых частиц. В исследовании 3 анализ твердых частиц проводился для отдельных временных точек (MPL 3M, RT30 3M, 5°C 6M и 25°C 6M). В одном образце количество твердых частиц было повышенным: образец, в котором гистидин в качестве буфера был заменен на сукцинат в составе 25. HMW при 25C в течение 6 месяцев показал 6527 частиц/мл $\geq$ 10 мкм. HMW при 25C в течение 6 месяцев показал 6527 частиц/мл $\geq$ 10 мкм. Остальные образцы имели менее 130 частиц/мл $\geq$ 10 мкм, что значительно ниже пределов спецификации частиц согласно USP <788>. Полученные данные показали, что переход на сукцинат в качестве буферного агента, даже при наличии всех остальных компонентов рецептуры, вызывает опасения.

[1038] Выводы - Исследование 3

[1039] В исследовании были изучены 3 различных компонента упаковки (предварительно заполненный шприц (pre-filled syringe, далее PFS) и патч-насос) в дополнение к флакону, и было подтверждено, что они хорошо сочетаются с препаратом.

[1040] Исследование также было направлено на понимание полного диапазона, в котором стабильность сохраняется наилучшим образом. Найденные диапазоны (из комбинации исследований 2 и 3) были следующими: pH: 5,2 - 6,5 гис; гистидин: 15 - 100 мМ; DTPA: 10 - 200 мкМ (альтернативно: 100 мкМ EDTA); Met: 1 - 20 мМ (альтернативно: 10 мМ Trp); rHuPH20: 0 - 5000 Ед/мл; PS80: 0,01 - 0,1% масс./об. (альтернативно: PS20 0,05% масс./об.и полоксамер 0,2 мг/мл); сахар: 10 - 400 мМ сахарозы; белок: 100-175 мг/мл; и первичная упаковка: флакон, PFS, патч-насос. Данные диапазоны были такими же для образцов без фермента.

[1041] Состав центральной точки был следующим: 120 мг/мл Nivo для флакона и 150 мг/мл Nivo для PFS, оба содержат 20 мМ гистидина, 250 мМ сахарозы, 5 мМ Met, 50 мкМ DTPA, 0,05% масс./об. полисорбата 80 при pH 6,0 с 2000 Ед/мл rHuPH20.

[1042] Диапазон pH для данного состава был критическим. После pH 6,5 наблюдалось увеличение HMW. Гистидин в качестве буфера был критически важен в составе и оказывал стабилизирующее действие. Более низкие концентрации гистидина приводили к увеличению образования HMW. Вблизи уровня 15 мМ гистидина наблюдалось резкое понижение стабильности. В данном исследовании изучался гистидин до 100 мМ, но ожидается, что более высокие концентрации будут стабильными. Присутствие DTPA было важным для поддержания стабильности Nivo, но зависимости от концентрации не наблюдалось. Увеличение содержания Met продемонстрировало более высокую защиту Nivo. Наличие Met было очевидным преимуществом, и более высокие концентрации Met были благоприятны против стресса MPL.

[1043] Сукцинат в качестве буфера не продемонстрировал достаточной стабильности для Nivo, образуя как растворимые агрегаты (увеличение HMW по данным SEC), так и нерастворимые агрегаты (частицы по MFI). В качестве альтернативного стабилизирующего агента для сахарозы, трегалоза и сорбит показали более высокое образование HMW при хранении. EDTA был менее эффективен, чем DTPA, и Tryp был менее эффективен, чем Met, даже при более высоких концентрациях. Проведенные исследования показали уникальный и благоприятный эффект гистидина и сахарозы в сочетании с Met и DTPA для улучшения стабильности Nivo.

Пример 6 - Исследование взаимодействия ниволумаба с вспомогательными веществами с помощью спектроскопии ядерного магнитного резонанса (ЯМР) и молекулярной динамики (МД)

[1044] Для изучения взаимодействия ниволумаба с вспомогательными веществами были проведены эксперименты ЯМР и компьютерное моделирование. Оба подхода подтверждают наличие предпочтимых взаимодействий белок-сахар и показывают более сильное связывание для сахарозы в сравнении с маннитом, трегалозой, глицином, сорбитом или сукцинатом. Полученные результаты могут указывать на ключевой молекулярный механизм, определяющий роль сахаров в белковых составах.

[1045] Сахара используются для стабилизации белковых составов и предотвращения образования белковых агрегатов. Цель данного примера заключается в том, чтобы лучше понять механизм стабилизации, определить, почему некоторые сахара работают лучше, чем другие, и помочь в выборе состава с помощью комбинации методов ядерного магнитного резонанса (ЯМР) и молекулярной динамики (МД). Для измерения взаимодействия и связывания белка с лигандом были использованы эксперименты ЯМР STD (Saturation Transfer Difference) (*см.* Angulo J. et al., Chem. Eur. J., 16:7803-7812 (2010), которая включена в настоящий документ посредством ссылки во всей своей полноте).

[1046] Эксперименты ЯМР STD проводились на спектрометре ЯМР NEO 700 Bruker с использованием программы сбора данных ЯМР в ICONNMR при 283 K с использованием последовательности пульсов *stddiff*. Интервал между сериями пульсов составлял 3-4,5 секунды. Эксперименты ЯМР проводились на образцах ниволумаба (концентрация 21,3 мг/мл) с вспомогательными веществами глицином, маннитом, сахарозой, трегалозой, сорбитом и сукцинатом для выявления эффективности связывания каждого сахара с ниволумабом. Эксперименты проводились при различных концентрациях вспомогательного вещества, и интенсивность интегральных пиков в разностных спектрах аппроксимировалось уравнением Михаэлиса-Ментен, чтобы оценить, является ли взаимодействие между вспомогательным веществом и белком специфическим или нет. Специфическое взаимодействие приводит к эффекту насыщения сигнала в разностных спектрах.

[1047] Молекулярная динамика (МД) представляет собой подход *in silico* для моделирования взаимодействий между молекулами на уровне атомов. В данном случае моделирование проводилось с одной Fab-группой ниволумаба, гистидиновым буфером (эквивалент 15 мМ) и молекулами вспомогательных веществ (эквивалент около 190 мМ). Каждая молекула вспомогательного вещества изучалась в отдельной симуляции. Ячейки для моделирования строились с помощью программного

обеспечения MOE 2019.0101 (Molecular Operating Environment 2019.0101; Chemical Computing Group Inc., Монреаль, Канада, 2017), и моделирование проводилось с использованием программы NAMD 2.12 (Phillips, J. C. et al., J. Comp. Chem, 26:1781-1802 (2005)).

[1048] Результаты МД симуляций анализировались путем подсчета того, сколько молекул вспомогательных веществ находилось на расстоянии водородной связи (<2A) от любого атома группы Fab. Чтобы отличить сильно связанные положения вспомогательных веществ от слабее связанных, был проведен кластерный анализ с тем, чтобы сгруппировать похожие положения связывания для каждого отдельного вспомогательного вещества и их отранжировать по тому, как часто эти положения занимались при моделировании.

[1049] Результаты ЯМР STD показывают, что сахароза имеет наименьшее значение Kd (константа диссоциации), демонстрируя самое сильное взаимодействие с mAb ниволумабом по сравнению трегалозой, глицином и маннитом, сорбитом и сукцинатом (ФИГ. 26).

[1050] На ФИГ. 27 показано среднее количество молекул сахара в пределах 2 Å от группы Fab ниволумаба в течение последних 8 нс МД-симуляции. Наблюдается значительная разница между различными вспомогательными веществами, при этом молекулы сахарозы взаимодействуют больше всего и молекулы глицина взаимодействуют меньше всего. Общая тенденция по количеству взаимодействий такова: сахароза > маннит = трегалоза > глицин. Молекулы сахарозы взаимодействуют более чем в пять раз чаще, чем глицин, и примерно на 50% чаще, чем маннит, который идет вторым по числу взаимодействий. Качественно полученные результаты согласуются с результатами ЯМР, но поскольку эксперименты ЯМР STD чувствительны к силе связывания, а не только к количеству взаимодействий, авторы изобретения дополнительно исследовали силу взаимодействий в МД с помощью кластерного анализа.

[1051] На ФИГ. 28A-28C показано расположение уникальных сайтов связывания, определенных для каждого вспомогательного вещества в результате кластерного анализа. Визуально разница между вспомогательными веществами очевидна: количество мест связывания маннита (ФИГ. 28C), трегалозы (ФИГ. 28E) и сахарозы (ФИГ. 28D) намного больше, чем сорбита (ФИГ. 28B) и глицина (ФИГ. 28A), что соответствует тенденциям на ФИГ. 27. На ФИГ. 29A-29B показано количество уникальных сайтов, выявленных для каждого вспомогательного вещества, при этом на

ФИГ. 29A представлены сайты слабого и среднего связывания, а на ФИГ. 29B представлены сайты сильного связывания. Только сахароза, трегалоза и сорбит связывались сильно в сайтах при моделировании, причем трегалоза и сорбит имеют по одному такому сайту, тогда как сахароза имеет их семь. Дальнейший анализ данных сайтов показал, что в таких сильно связанных положениях между белком и молекулой вспомогательного вещества образуется 3-4 водородные связи, что подтверждает, что данные положения очень благоприятны и могут быть хорошими кандидатами для сайтов обмена, определенных по результатам ЯМР STD. Следует отметить, что сильно связывающие сайты трегалозы и сорбита находятся в константном домене Fab и вблизи шарнирной области, где могут существовать дополнительные стерические взаимодействия, препятствующие связыванию в случае цельного mAb.

[1052] Результаты ЯМР показывают, что только сахароза сильно взаимодействует/связывается с ниволумабом по сравнению с глицином, маннитом, сахарозой, трегалозой, сорбитом и сукцинатом. Результаты MD показывают, что все исследованные сахара взаимодействуют в той или иной степени, в порядке предпочтения: сахароза > маннит ≥ трегалоза > глицин > сорбит. Кластерный анализ данных МД-симуляций показывает, что только для сахарозы и трегалозы характерны сильные связывающие взаимодействия, которые стабилизируются неспецифическими и специфическими взаимодействиями с экспонированными остатками на Fab. Наблюдение сильно связывающих сайтов только для сахарозы согласуется с наблюдениями ЯМР и результатами МД-симуляций, и, следовательно, с отличающимся поведением сахарозы (Kamerzell, T.J. et al., Advanced Drug Delivery Reviews, 63:1118-1159 (2011)), делая ее лучшим вспомогательным веществом для стабилизации белков. Большее общее количество сайтов связывания сахарозы может объяснить, почему сахароза показывает лучшее ингибирование агрегации среди протестированных молекул.

Пример 7 - Анализ дополнительных ферментов гиалуронидазы с ниволумабом

[1053] Состав ниволумаба для подкожного введения включает фермент гиалуронидазу (rHuPH20). В текущем исследовании будет оцениваться совместимость ниволумаба и альтернативного аналога rHuPH20. Альтернативный вариант фермента будет помещен в камеру стабильности (например, при 5°C, 25°C или 35°C) при действующей композиции состава: 120 мг/мл ниволумаба в 20 мМ гистидина (pH 6,0), 250 мМ сахарозы, 0,05% полисорбата 80, 5 мМ метионина, 50 мкМ пентетовой кислоты и 2000 Ед/мл rHuPH20.

[1054] Различные альтернативные аналоги rHuPH20 будут оценены для комбинирования с составом ниволумаба для подкожного введения. Примеры альтернативных аналогов, которые будут рассмотрены, включают, но не ограничиваются ими, ферменты, имеющие аминокислотную последовательность, выбранную из аминокислотных последовательностей, представленных в SEQ ID NO: 5-264. Например, альтернативный аналог rHuPH20, имеющий аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 92, будет помещен в камеру стабильности в действующей композиции состава: 120 мг/мл ниволумаба в 20 мМ гистидина (pH 6,0), 250 мМ сахарозы, 0,05% полисорбата 80, 5 мМ метионина, 50 мкМ пентетовой кислоты и rHuPH20 (например, 2000 Ед/мл); где rHuPH20 имеет аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 92. В другом примере альтернативный аналог rHuPH20, имеющий аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 264, будет помещен в камеру стабильности в действующей композиции состава: 120 мг/мл ниволумаба в 20 мМ гистидина (pH 6,0), 250 мМ сахарозы, 0,05% полисорбата 80, 5 мМ метионина, 50 мкМ пентековой кислоты и rHuPH20 (например, 2000 Ед/мл); где rHuPH20 имеет аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 264.

[1055] В каждой временной точке будут измерены следующие показатели: pH, концентрация белка и проведена SEC. Отдельные образцы будут проверены на содержание твердых частиц (с помощью HIAC) и ферментативную активность. Достаточное количество образца будет сохранено для анализа PS-80 и анализа с помощью CD-SDS и iCiEF, и будет проверено при необходимости. Для каждой временной точки будет подготовлено 6 мл для анализа.

[1056] Всего будет заполнено 22 флакона по 3 мл на образец, чтобы охватить 11 временных точек. Это будет сделано путем подготовки образцов с 80 мл состава для учета потерь при фильтрации с использованием PES фильтра с порами размером 0,22 мкМ. Отфильтрованный лекарственный препарат будет разлит в депирогенизированные флаконы объемом 3 мл (стекло Schott Type 1) и закупорен автоклавированными 13-мм пробками Daikyo (D-21-7S, с покрытием Fluorotec). Флаконы обжимаются и помещаются в камеру стабильности в вертикальном положении.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ:

1. Фармацевтическая композиция, содержащая (i) антитело, которое специфически связывает PD-1 («анти-PD-1 антитело»), (ii) гидролазный фермент эндогликозидазу и (iii) по меньшей мере два антиоксиданта.

2. Фармацевтическая композиция по п. 1, в которой по меньшей мере один из двух антиоксидантов является «жертвуемым» антиоксидантом, выбранным из группы, состоящей из метионина, триптофана и гистидина, цистеина, аскорбиновой кислоты, глицина или других жертвуемых средств.

3. Фармацевтическая композиция по п. 1 или 2, в которой по меньшей мере один из по меньшей мере двух антиоксидантов содержит хелатор ионов металлов.

4. Фармацевтическая композиция по п. 3, в которой хелатор ионов металлов выбран из пентетовой кислоты («DTPA») и EDTA.

5. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-4, в которой по меньшей мере два антиоксиданта выбраны из группы, состоящей из метионина, DTPA и EDTA.

6. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-5, в которой по меньшей мере два антиоксиданта представляют собой (i) метионин и DTPA или (ii) метионин и EDTA.

7. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-6, в которой по меньшей мере один антиоксидант содержит по меньшей мере от около 1 до около 20 мМ метионина.

8. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-7, в которой по меньшей мере один антиоксидант содержит по меньшей мере около 1 мМ, по меньшей мере около 1,5 мМ, по меньшей мере около 2 мМ, по меньшей мере около 2,5 мМ, по меньшей мере около 3 мМ, по меньшей мере около 3,5 мМ, по меньшей мере около 4 мМ, по меньшей мере около 4,5 мМ, по меньшей мере около 5 мМ, по меньшей мере около 5,5 мМ, по меньшей мере около 6 мМ, по меньшей мере около 6,5 мМ, по меньшей мере около 7 мМ, по меньшей мере около 7,5 мМ, по меньшей мере около 8 мМ, по меньшей мере около 8,5 мМ, по меньшей мере

около 9 мМ, по меньшей мере около 9,5 мМ, по меньшей мере около 10 мМ, по меньшей мере около 11 мМ, по меньшей мере около 12 мМ, по меньшей мере около 13 мМ, по меньшей мере около 14 мМ, по меньшей мере около 15 мМ, по меньшей мере около 16 мМ, по меньшей мере около 17 мМ, по меньшей мере около 18 мМ, по меньшей мере около 19 мМ или по меньшей мере около 20 мМ метионина.

9. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-8, в которой по меньшей мере один антиоксидант содержит около 5 мМ метионина.

10. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-9, в которой по меньшей мере один антиоксидант содержит по меньшей мере от около 10 мкМ до около 200 мкМ. DTPA.

11. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-10, в которой по меньшей мере один антиоксидант включает по меньшей мере около 10 мкМ, по меньшей мере около 15 мкМ, по меньшей мере около 20 мкМ, по меньшей мере около 25 мкМ, по меньшей мере около 30 мкМ, по меньшей мере около 35 мкМ, по меньшей мере около 40 мкМ, по меньшей мере около 45 мкМ, по меньшей мере около 50 мкМ, по меньшей мере около 55 мкМ, по меньшей мере около 60 мкМ, по меньшей мере около 65 мкМ, по меньшей мере около 70 мкМ, по меньшей мере около 75 мкМ, по меньшей мере около 80 мкМ, по меньшей мере около 85 мкМ, по меньшей мере около 90 мкМ, по меньшей мере около 95 мкМ, по меньшей мере около 100 мкМ, по меньшей мере около 110 мкМ, по меньшей мере около 120 мкМ, по меньшей мере около 130 мкМ, по меньшей мере около 140 мкМ, по меньшей мере около 150 мкМ, по меньшей мере около 160 мкМ, по меньшей мере около 170 мкМ, по меньшей мере около 180 мкМ, по меньшей мере около 190 мкМ или по меньшей мере около 200 мкМ DTPA.

12. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-11, в которой по меньшей мере один антиоксидант включает около 50 мкМ DTPA.

13. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-12, включающая от по меньшей мере около 20 мг/мл до по меньшей мере около 200 мг/мл анти-PD-1 антитела.

14. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-13, включающая по меньшей мере около 20 мг/мл, по меньшей мере около 30 мг/мл, по меньшей мере около 40 мг/мл, по меньшей мере около 50 мг/мл, по меньшей мере около 60 мг/мл, по меньшей мере около 70 мг/мл, по меньшей мере около 80 мг/мл, по меньшей мере около 90 мг/мл, по меньшей мере около 100 мг/мл, по меньшей мере около 110 мг/мл, по меньшей мере около 120 мг/мл, по меньшей мере около 130 мг/мл, по меньшей мере около 140 мг/мл, по меньшей мере около 150 мг/мл, по меньшей мере около 160 мг/мл, по меньшей мере около 170 мг/мл, по меньшей мере около 180 мг/мл, по меньшей мере около 190 мг/мл или по меньшей мере около 200 мг/мл анти-PD-1 антитела.

15. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-14, включающая около 120 мг/мл или около 150 мг/мл анти-PD-1 антитела.

16. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-15, включающая от по меньшей мере около 5 ЕД до по меньшей мере около 100000 ЕД гидролазного фермента эндогликозидазы.

17. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-16, включающая по меньшей мере около 5 ЕД, по меньшей мере около 10 ЕД, по меньшей мере около 20 ЕД, по меньшей мере около 30 ЕД, по меньшей мере около 40 ЕД, по меньшей мере около 50 ЕД, по меньшей мере около 75 ЕД, по меньшей мере около 100 ЕД, по меньшей мере около 200 ЕД, по меньшей мере около 300 ЕД, по меньшей мере около 400 ЕД, по меньшей мере около 500 ЕД, по меньшей мере около 750 ЕД, по меньшей мере около 1000 ЕД ЕД, по меньшей мере около 2000 ЕД, по меньшей мере около 3000 ЕД, по меньшей мере около 4000 ЕД, по меньшей мере около 5000 ЕД, по меньшей мере около 6000 ЕД, по меньшей мере около 7000 ЕД, по меньшей мере около 8000 ЕД, по меньшей мере около 9000 ЕД, по меньшей мере около 10000 ЕД, по меньшей мере около 20000 ЕД, по меньшей мере около 30000 ЕД, по меньшей мере около 40000 ЕД, по меньшей мере около 50000 ЕД, по меньшей мере около 60000 ЕД, по меньшей мере около 70000 ЕД, по меньшей мере около 80000 ЕД, по меньшей мере около 90000 ЕД или по меньшей мере около 100000 ЕД гидролазного фермента эндогликозидазы.

18. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-17, включающая около 20000 ЕД гидролазного фермента эндогликозидазы.

19. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-18, включающая от по меньшей мере около 500 Ед/мл до по меньшей мере около 5000 Ед/мл гидролазного фермента эндогликозидазы.

20. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-19, включающая по меньшей мере около 1500 Ед/мл, по меньшей мере около 1600 Ед/мл, по меньшей мере около 1700 Ед/мл, по меньшей мере около 1800 Ед/мл, по меньшей мере около 1900 Ед/мл, по меньшей мере около 2000 Ед/мл, по меньшей мере около 2100 Ед/мл, по меньшей мере около 2200 Ед/мл, по меньшей мере около 2300 Ед/мл, по меньшей мере около 2400 Ед/мл, по меньшей мере около 2500 Ед/мл, по меньшей мере около 3000 Ед/мл, по меньшей мере около 3500 Ед/мл, по меньшей мере около 4000 Ед/мл, по меньшей мере около 4500 Ед/мл или по меньшей мере около 5000 Ед/мл гидролазного фермента эндогликозидазы.

21. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-20, включающая около 2000 Ед/мл гидролазного фермента эндогликозидазы.

22. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-21, где гидролазный фермент эндогликозидаза расщепляет гиалуроновую кислоту по гексозаминидной β (1-4) или (1-3) связи.

23. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-22, где гидролазный фермент эндогликозидаза включает каталитический домен гиалуронидазы PH-20 (HuPH20), HYAL1, HYAL2, HYAL3, HYAL4 или HYALPS1.

24. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-23, где гидролазный фермент эндогликозидаза включает аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере около 70%, по меньшей мере около 75%, по меньшей мере около 80%, по меньшей мере около 85%, по меньшей мере около 90%, по меньшей мере около 95%, по меньшей мере около 96%, по меньшей мере около 97%, по меньшей мере около 98%, по меньшей мере около 99% или около 100% идентичности последовательности по аминокислотам 36-490 из

SEQ ID NO: 1.

25. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-24, где гидролазный фермент эндогликозидаза включает гиалуронидазу.

26. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-25, где гидролазный фермент эндогликозидаза включает гиалуронидазу, выбранную из группы, состоящей из HuPH20, HYAL1, HYAL2, HYAL3, HYAL4, любого их варианта и любой их изоформы.

27. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-26, где гидролазный фермент эндогликозидаза включает rHuPH20 или его фрагмент.

28. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-27, где гидролазный фермент эндогликозидаза включает модифицированную гиалуронидазу, включающую одну или более аминокислотных замен относительно гиалуронидазы дикого типа, выбранную из группы, состоящей из HuPH20, HYAL1, HYAL2, HYAL3, HYAL4, HYALPS1 или их фрагмента.

29. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-28, где гидролазный фермент эндогликозидаза включает модифицированную гиалуронидазу, включающую (i) одну или более аминокислотных замен в области альфа-спирали, (ii) одну или более аминокислотных замен в области линкера, (iii) делецию одной или более N-концевых и/или C-концевых аминокислот, или (iv) любую комбинацию (i)-(iii), относительно гиалуронидазы дикого типа, выбранной из группы, состоящей из HuPH20, HYAL1, HYAL2, HYAL3, HYAL4, HYALPS1 или их фрагмента.

30. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-29, где гидролазный фермент эндогликозидаза включает модифицированный rHuPH20, где модифицированный rHuPH20 включает:

i. одну или более аминокислотных замен в области альфа-спирали, области линкера или как в области альфа-спирали, так и в области линкера относительно rHuPH20 дикого типа;

ii. делецию одной или более N-концевой аминокислоты, одной или более C-концевой аминокислоты или одной или более N-концевой аминокислоты и одной или более C-концевой аминокислоты

относительно rHuPH20 дикого типа; или

iii. как (i), так и (ii).

31. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-30, дополнительно включающая модификатор тоничности и/или стабилизатор.

32. Фармацевтическая композиция по п. 31, в которой модификатор тоничности и/или стабилизатор включает сахар, аминокислоту, полиол, соль или их комбинацию.

33. Фармацевтическая композиция по п. 31 или 32, в которой модификатор тоничности и/или стабилизатор включает сахарозу, сорбит, трегалозу, маннит, глицерин, глицин, лейцин, изолейцин, хлорид натрия, пролин, аргинин, гистидин или любую их комбинацию.

34. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 31-33, в которой модификатор тоничности включает сахарозу.

35. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-34, включающая от по меньшей мере около 10 мМ до по меньшей мере около 500 мМ сахарозы.

36. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-35, включающая по меньшей мере около 10 мМ, по меньшей мере около 20 мМ, по меньшей мере около 30 мМ, по меньшей мере около 40 мМ, по меньшей мере около 50 мМ, по меньшей мере около 60 мМ, по меньшей мере около 70 мМ, по меньшей мере около 80 мМ, по меньшей мере около 90 мМ, по меньшей мере около 100 мМ, по меньшей мере около 110 мМ, по меньшей мере около 120 мМ, по меньшей мере около 130 мМ, по меньшей мере около 140 мМ, по меньшей мере около 150 мМ, по меньшей мере около 160 мМ, по меньшей мере около 170 мМ, по меньшей мере около 180 мМ, по меньшей мере около 190 мМ, по меньшей мере около 200 мМ, по меньшей мере около 210 мМ, по меньшей мере около 220 мМ, по меньшей мере около 230 мМ, по меньшей мере около 240 мМ, по меньшей мере около 250 мМ, по меньшей мере около 260 мМ, по меньшей мере около 270 мМ, по меньшей мере около 280 мМ, по меньшей мере около 290 мМ, по меньшей мере около 300 мМ, по меньшей мере около 310 мМ, по меньшей мере около 320 мМ, по меньшей мере около 330 мМ, по меньшей мере около 340 мМ, по меньшей мере около 350 мМ, по меньшей мере около 360 мМ, по меньшей

мере около 370 мМ, по меньшей мере около 380 мМ, по меньшей мере около 390 мМ, по меньшей мере около 400 мМ, по меньшей мере около 410 мМ, по меньшей мере около 420 мМ, по меньшей мере около 430 мМ, по меньшей мере около 440 мМ, по меньшей мере около 450 мМ, по меньшей мере около 460 мМ, по меньшей мере около 470 мМ, по меньшей мере около 480 мМ, по меньшей мере около 490 мМ или по меньшей мере около 500 мМ сахарозы.

37. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-36, включающая около 250 мМ сахарозы.

38. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-37, дополнительно включающая буферный агент.

39. Фармацевтическая композиция по п. 38, в которой буферный агент выбран из гистидина, сукцината, трометамина, фосфата натрия, ацетата натрия и цитрата натрия.

40. Фармацевтическая композиция по п. 38 или 39, в которой буферный агент включает гистидин.

41. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-40, включающая от по меньшей мере около 5 мМ до по меньшей мере около 100 мМ гистидина.

42. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-41, включающая по меньшей мере около 5 мМ, по меньшей мере около 10 мМ, по меньшей мере около 15 мМ, по меньшей мере около 20 мМ, по меньшей мере около 25 мМ, по меньшей мере около 30 мМ, по меньшей мере около 35 мМ, по меньшей мере около 40 мМ, по меньшей мере около 45 мМ, по меньшей мере около 50 мМ, по меньшей мере около 60 мМ, по меньшей мере около 70 мМ, по меньшей мере около 80 мМ, по меньшей мере около 90 мМ или по меньшей мере около 100 мМ гистидина.

43. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-42, включающая около 20 мМ гистидина.

44. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-43, дополнительно включающая поверхностно-активное вещество.

45. Фармацевтическая композиция по п. 44, в которой поверхностно-активное вещество выбрано из группы, состоящей из полисорбата 20, полисорбата 80 и полоксамера 188.

46. Фармацевтическая композиция по п. 44 или 45, в которой поверхностно-активное вещество включает полисорбат 80.

47. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-46, включающая от по меньшей мере около 0,01% масс./об.до по меньшей мере около 0,1% масс./об.полисорбата 80.

48. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-47, включающая по меньшей мере около 0,01% масс./об., по меньшей мере около 0,02% масс./об., по меньшей мере около 0,03% масс./об., по меньшей мере около 0,04% масс./об., по меньшей мере около 0,05% масс./об., по меньшей мере около 0,06% масс./об., по меньшей мере около 0,07% масс./об., по меньшей мере около 0,08% масс./об., по меньшей мере около 0,09% масс./об. или по меньшей мере около 0,1% масс./об. полисорбата 80.

49. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-48, включающая около 0,05% масс./об. полисорбата 80.

50. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-27 и 31-49, включающая:
(a) около 120 мг/мл анти-PD-1 антитела;
(b) около 20 мМ гистидина;
(c) около 250 мМ сахарозы;
(d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80;
(e) около 50 мкМ пентетовой кислоты;
(f) около 5 мМ метионина; и
(g) около 0,0182 мг/мл rHuPH20.

51. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-27 и 31-49, включающая:
(a) около 120 мг/мл анти-PD-1 антитела;
(b) около 20 мМ гистидина;
(c) около 250 мМ сахарозы;
(d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80;

(e) около 50 мкМ пентетовой кислоты;

(f) около 5 мМ метионина; и

(g) около 2000 Ед/мл rHuPH20.

52. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-27 и 31-49, включающая:

(a) около 150 мг/мл анти-PD-1 антитела;

(b) около 20 мМ гистидина;

(c) около 250 мМ сахарозы;

(d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80;

(e) около 50 мкМ пентетовой кислоты;

(f) около 5 мМ метионина; и

(g) около 0,0182 мг/мл rHuPH20.

53. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-27 и 31-49, включающая:

(a) около 150 мг/мл анти-PD-1 антитела;

(b) около 20 мМ гистидина;

(c) около 250 мМ сахарозы;

(d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80;

(e) около 50 мкМ пентетовой кислоты;

(f) около 5 мМ метионина; и

(g) около 2000 Ед/мл rHuPH20.

54. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-53, в которой анти-PD-1 антитело выбрано из ниволумаба, пембролизумаба, PDR001, MEDI-0680, цемиплимаба, торипалимаба, тислизумаба, INCSHR1210, TSR-042, GLS-010, AM-0001, STI-1110, AGEN2034, MGA012, BCD-100, IBI308, сасанлимаба и любой их комбинации.

55. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-64, в которой анти-PD-1 антитело представляет собой ниволумаб.

56. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-64, в которой анти-PD-1 антитело представляет собой пембролизумаб.

57. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-27 и 31-55, включающая:

(a) около 120 мг/мл ниволумаба;

(b) около 20 мМ гистидина;

(c) около 250 мМ сахарозы;

(d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80;

(e) около 50 мкМ пентетовой кислоты;

(f) около 5 мМ метионина; и

(g) около 0,0182 мг/мл rHuPH20.

58. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-27 и 31-55, включающая:

(a) около 120 мг/мл ниволумаба;

(b) около 20 мМ гистидина;

(c) около 250 мМ сахарозы;

(d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80;

(e) около 50 мкМ пентетовой кислоты;

(f) около 5 мМ метионина; и

(g) около 2000 Ед/мл rHuPH20.

59. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-27 и 31-55, включающая:

(a) около 150 мг/мл ниволумаба;

(b) около 20 мМ гистидина;

(c) около 250 мМ сахарозы;

(d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80;

(e) около 50 мкМ пентетовой кислоты;

(f) около 5 мМ метионина; и

(g) около 0,0182 мг/мл rHuPH20

60. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-27 и 31-55, включающая:

(a) около 150 мг/мл ниволумаба;

(b) около 20 мМ гистидина;

(c) около 250 мМ сахарозы;

(d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80;

(e) около 50 мкМ пентетовой кислоты;

(f) около 5 мМ метионина; и

(g) около 2000 Ед/мл rHuPH20.

61. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-27 и 31-55, включающая:

(a) около 672 мг ниволумаба;

(b) около 8,68 мг гистидина;

(c) около 11,8 мг гистидина HCl H2O;

(d) около 479 мг сахарозы;

(e) около 2,80 мг полисорбата 80;

(f) около 0,110 мг пентетовой кислоты;

(g) около 4,18 мг метионина;

(h) около 0,102 мг rHuPH20;

где (a)-(h) восстанавливаются в воде до конечного объема по меньшей мере около 5,6 мл.

62. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-61, включающая pH от около 5,2 до около 6,8.

63. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-62, включающая pH около 5,2, около 5,3, около 5,4, около 5,5, около 5,6, около 5,7, около 5,8, около 5,9, около 6,0, около 6,1, около 6,2, около 6,3, около 6,4, около 6,5, около 6,6, около 6,7 или около 6,8.

64. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-63, включающая pH около 6,0.

65. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-64, дополнительно включающая второе терапевтическое средство.

66. Фармацевтическая композиция по п. 65, в которой второе терапевтическое средство представляет собой антитело.

67. Фармацевтическая композиция по п. 66, в которой второе терапевтическое средство представляет собой ингибитор контрольной точки.

68. Фармацевтическая композиция по п. 67, в которой ингибитор контрольной точки представляет собой анти-CTLA-4 антитело, анти-LAG-3 антитело, анти-TIM3 антитело, анти-TIGIT антитело, анти-NKG2a антитело, анти-OX40 антитело, анти-ICOS антитело, анти-MICA антитело, анти-CD137 антитело, анти-KIR антитело, анти-TGFβ антитело, анти-IL-10 антитело, анти-IL-8 антитело, анти-B7-H4 антитело, анти-Fas-лиганд антитело, анти CXCR4 антитело, анти-мезотелин антитело, анти-CD27 антитело, анти-GITR или любую их комбинацию.

69. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-27 и 31-68, включающая:

(a) около 120 мг/мл ниволумаба;

(b) около 20 мМ гистидина;

(c) около 250 мМ сахарозы;

(d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80;

(e) около 50 мкМ пентетовой кислоты;

(f) около 5 мМ метионина;

(g) около 2000 Ед/мл rHuPH20; и

(h) анти-CTLA-4 антитело.

70. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-27 и 31-68, включающая:

(a) около 150 мг/мл ниволумаба;

(b) около 20 мМ гистидина;

(c) около 250 мМ сахарозы;

(d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80;

(e) около 50 мкМ пентетовой кислоты;

(f) около 5 мМ метионина;

(g) около 2000 Ед/мл rHuPH20; и

(h) анти-CTLA-4 антитело.

71. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-27 и 31-68, включающая:

(a) около 120 мг/мл ниволумаба;

(b) около 20 мМ гистидина;

(c) около 250 мМ сахарозы;

(d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80;

(e) около 50 мкМ пентетовой кислоты;

(f) около 5 мМ метионина;

(g) около 2000 Ед/мл rHuPH20; и

(h) анти-LAG-3 антитело.

72. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-27 и 31-68, включающая:

(a) около 150 мг/мл ниволумаба;

(b) около 20 мМ гистидина;

(c) около 250 мМ сахарозы;

(d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80;

(e) около 50 мкМ пентетовой кислоты;

(f) около 5 мМ метионина;

(g) около 2000 Ед/мл rHuPH20; и

(h) анти-LAG-3 антитело.

73. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-27 и 31-68, включающая:

(a) около 120 мг/мл ниволумаба;

(b) около 20 мМ гистидина;

(c) около 250 мМ сахарозы;

(d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80;

(e) около 50 мкМ пентетовой кислоты;

(f) около 5 мМ метионина;

(g) около 2000 Ед/мл rHuPH20; и

(h) анти-TIM3 антитело.

74. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-27 и 31-68, включающая:

(a) около 150 мг/мл ниволумаба;

(b) около 20 мМ гистидина;

(c) около 250 мМ сахарозы;

(d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80;

(e) около 50 мкМ пентетовой кислоты;

(f) около 5 мМ метионина;

(g) около 2000 Ед/мл rHuPH20; и

(h) анти-TIM3 антитело.

75. Флакон, содержащий фармацевтическую композицию по любому из пп. 1-74.

76. Шприц, содержащий фармацевтическую композицию по любому из пп. 1-74.

77. Автоинжектор, содержащий фармацевтическую композицию по любому из пп. 1-74.

78. Носимый насос, содержащий фармацевтическую композицию по любому из пп. 1-74.

79. Шприц по п. 76, дополнительно включающий плунжер.

80. Способ лечения заболевания или расстройства у субъекта, нуждающегося в этом, включающий введение субъекту фармацевтически эффективного количества фармацевтической композиции по любому из пп. 1-74.

81. Способ по п. 80, в котором фармацевтическая композиция вводится подкожно.

82. Способ по п. 80 или 81, в котором заболевание или расстройство является инфекционным заболеванием.

83. Способ по п. 80 или 81, в котором заболевание или расстройство представляет собой рак.

84. Способ по п. 83, в котором рак выбран из плоскоклеточной карциномы, мелкоклеточного рака легкого (МРЛ), немелкоклеточного рака легкого (НМРЛ), сквамозного НМРЛ, несквамозного НМРЛ, глиомы, рака желудочно-кишечного тракта, рака почек, прозрачно-клеточной карциномы, рака яичников, рака печени, колоректального рака, рака эндометрия, рака почек, почечно-клеточной карциномы (ПКР), рака простаты, гормонорефрактерной аденокарциномы простаты, рака щитовидной железы, нейробластомы, рака поджелудочной железы, глиобластомы, мультиформной глиобластомы, рака шейки матки, рака желудка, рака мочевого пузыря, гепатомы, рака молочной железы, карциномы толстой кишки, рака головы и шеи, рака желудка, герминогенной опухоли, детской саркомы, синоназального естественного киллера, меланомы, рака костей, рака кожи, рака матки, рака анальной области, рака яичек, карциномы фаллопиевых труб, карциномы эндометрия, карциномы шейки матки, карциномы влагалища, карциномы вульвы, рака пищевода, рака тонкой кишки, рака эндокринной системы, рака паращитовидной железы, рака надпочечников, саркомы мягких тканей, рака уретры, рака полового члена, рака прямой кишки, солидных опухолей детского возраста, рака мочеточника, карциномы почечной лоханки, новообразования центральной нервной системы (ЦНС), первичной лимфомы ЦНС, опухолевого ангиогенеза, опухоли оси позвоночника, рака мозга, глиомы ствола мозга, аденомы гипофиза, саркомы Капоши, эпидермоидного рака, плоскоклеточного рака, рака, вызванного окружающей средой, включая рак, вызванный асбестом, рака, связанного с вирусами, или рака вирусного происхождения (например, вирус папилломы человека (опухоли,

связанные с ВПЧ или вызванные ВПЧ)) и любой их комбинации.

85. Способ лечения нуждающегося в этом субъекта, включающий подкожное введение субъекту эффективной дозы фармацевтической композиции, включающей антитело, которое специфически связывает PD-1 или PD-L1 и ингибирует взаимодействие PD-1 и PD-L1 («анти-PD-1 антитело» или «анти-PD-L1 антитело», соответственно); при этом эффективная доза включает одну или более единичных доз для подкожного введения, где по меньшей мере одна из единичных доз для подкожного введения имеет общий объем менее чем около 5 мл, менее чем около 4,5 мл, менее чем около 4,0 мл, менее чем около 3,5 мл, менее чем около 3,0 мл, менее чем около 3 мл или менее чем около 2,5 мл; и где эффективная доза включает от по меньшей мере около 250 мг до по меньшей мере около 2400 мг антитела.

86. Способ по п. 85, в котором фармацевтическая композиция не включает гиалуронидазу.

87. Способ по п. 85 или 86, в котором эффективная доза включает две или более единичные дозы для подкожного введения, и где две или более единичные дозы для подкожного введения вводятся одновременно или последовательно.

88. Способ по п. 87, в котором две или более единичные дозы для подкожного введения вводятся последовательно, при этом каждая из двух или более единичных доз для подкожного введения вводится с интервалом около 10 минут, около 15 минут, около 20 минут, около 30 минут, около 45 минут, около одного часа, около двух часов, около трех часов, около четырех часов, около пяти часов, около шести часов, около девяти часов, около двенадцати часов, около восемнадцати часов или около двадцати четырех часов между двумя или более единичными дозами для подкожного введения.

89. Способ по любому из пп. 1-88, в котором эффективную дозу вводят приблизительно каждые одну, две, три или четыре недели.

90. Способ по любому из пп. 85-89, в котором антитело включает анти-PD-1 антитело.

91. Способ по любому из пп. 85-90, в котором эффективная доза антитела

составляет от около 250 мг до около 600 мг антитела, вводимого приблизительно каждую неделю.

92. Способ по любому из пп. 85-91, в котором эффективная доза антитела составляет около 250 мг, около 260 мг, около 270 мг, около 280 мг, около 290 мг, около 300 мг, около 310 мг, около 320 мг, около 330 мг, около 340 мг, около 350 мг, около 360 мг, около 370 мг, около 380 мг, около 390 мг, около 400 мг, около 410 мг, около 420 мг, около 430 мг, около 440 мг, около 450 мг, около 460 мг, около 470 мг, около 480 мг, около 490 мг, около 500 мг, около 510 мг, около 520 мг, около 530 мг, около 540 мг, около 550 мг, около 560 мг, около 570 мг, около 580 мг, около 590 мг или около 600 мг, вводимых приблизительно каждую неделю.

93. Способ по любому из пп. 1-92, в котором эффективная доза антитела составляет около 300 мг, вводимых приблизительно каждую неделю.

94. Способ по п. 93, в котором эффективная доза антитела включает однократную единичную дозу для подкожного введения около 300 мг.

95. Способ по п. 93 или 94, в котором эффективная доза антитела включает однократную единичную дозу для подкожного введения около 300 мг в общем вводимом объеме около 2 мл.

96. Способ по п. 93, в котором эффективная доза антитела включает (i) две единичные дозы для подкожного введения, где каждая из двух единичных доз для подкожного введения включает около 150 мг антитела; или (ii) три единичные дозы для подкожного введения, где каждая из трех единичных доз для подкожного введения включает около 100 мг антитела.

97. Способ по п. 96, в котором (i) по меньшей мере одна из двух единичных доз для подкожного введения включает около 150 мг антитела в общем объеме менее чем около 5 мл; и (ii) по меньшей мере одна из трех единичных доз для подкожного введения включает около 100 мг антитела в общем объеме около 2 мл.

98. Способ по п. 96 или 97, в котором (i) две единичные дозы для подкожного введения вводятся субъекту в два разных места тела или (ii) по меньшей мере

две из трех единичных доз для подкожного введения вводятся субъекту по меньшей мере в два разных места тела.

99. Способ по любому из пп. 85-90, в котором эффективная доза антитела составляет от около 300 мг до около 900 мг, вводимых приблизительно каждые две недели.

100. Способ по п. 99, в котором эффективная доза антитела составляет около 300 мг, около 350 мг, около 400 мг, около 450 мг, около 500 мг, около 510 мг, около 520 мг, около 530 мг, около 540 мг, около 550 мг, около 560 мг, около 570 мг, около 580 мг, около 590 мг, около 600 мг, около 610 мг, около 620 мг, около 630 мг, около 640 мг, около 650 мг, около 660 мг, около 670 мг, около 680 мг, около 690 мг, около 700 мг, около 710 мг, около 720 мг, около 730 мг, около 740 мг, около 750 мг, около 760 мг, около 770 мг, около 780 мг, около 790 мг, около 800 мг, около 810 мг, около 820 мг, около 830 мг, около 840 мг, около 850 мг, около 860 мг, около 870 мг, около 880 мг, около 890 мг или около 900 мг, вводимых приблизительно каждые две недели.

101. Способ по п. 99 или 100, в котором эффективная доза антитела составляет около 600 мг, вводимых вводимых приблизительно каждые две недели.

102. Способ по п. 101, в котором эффективная доза антитела включает однократную единичную дозу для подкожного введения.

103. Способ по п. 101, в котором эффективная доза антитела включает две, три или по меньшей мере четыре единичные дозы для подкожного введения.

104. Способ по п. 101 или 103, в котором эффективная доза антитела включает две единичные дозы для подкожного введения, где каждая из двух единичных доз для подкожного введения включает около 300 мг антитела.

105. Способ по п. 104, в котором по меньшей мере одна из двух единичных доз для подкожного введения включает около 300 мг антитела в общем объеме около 2 мл.

106. Способ по любому из пп. 103-105, в котором по меньшей мере две из единичных доз для подкожного введения вводятся субъекту по меньшей мере

в два разных места тела.

107. Способ по любому из пп. 85-90, в котором эффективная доза антитела составляет от около 900 мг до около 1500 мг, вводимых приблизительно каждые четыре недели.

108. Способ по п. 107, в котором эффективная доза антитела составляет около 900, около 950, около 1000 мг, около 1010 мг, около 1020 мг, около 1030 мг, около 1040 мг, около 1050 мг, около 1060 мг, около 1070 мг, около 1080 мг, около 1090 мг, около 1100 мг, около 1110 мг, около 1120 мг, около 1130 мг, около 1140 мг, около 1150 мг, около 1160 мг, около 1170 мг, около 1180 мг, около 1190 мг, около 1200 мг, около 1210 мг, около 1220 мг, около 1230 мг, около 1240 мг, около 1250 мг, около 1260 мг, около 1270 мг, около 1280 мг, около 1290 мг, около 1300 мг, около 1310 мг, около 1320 мг, около 1330 мг, около 1340 мг, около 1350 мг, около 1360 мг, около 1370 мг, около 1380 мг, около 1390 мг, около 1400 мг, около 1410 мг, около 1420 мг, около 1430 мг, около 1440 мг, около 1450 мг, около 1460 мг, около 1470 мг, около 1480 мг, около 1490 мг или около 1500 мг, вводимых приблизительно каждые четыре недели.

109. Способ по п. 107 или 108, в котором эффективная доза антитела составляет около 1200 мг, вводимых приблизительно каждые четыре недели.

110. Способ по любому из пп. 107-109, в котором эффективная доза антитела включает две, три, четыре, шесть или по меньшей мере восемь единичных доз для подкожного введения.

111. Способ по любому из пп. 107-110, в котором эффективная доза антитела включает четыре единичные дозы для подкожного введения, где каждая из четырех единичных доз для подкожного введения включает около 300 мг антитела.

112. Способ по п. 111, в котором по меньшей мере одна из четырех единичных доз для подкожного введения включает около 300 мг антитела в общем объеме около 2 мл.

113. Способ по любому из пп. 110-112, в котором по меньшей мере две из единичных доз для подкожного введения вводятся субъекту по меньшей мере

в два разных места тела.

114. Способ по любому из пп. 110-113, в котором две, три, четыре, шесть или по меньшей мере восемь единичных доз для подкожного введения вводятся в один и тот же день.

115. Способ по любому из пп. 85-89, в котором антитело включает анти-PD-L1 антитело.

116. Способ по п. 115, в котором эффективная доза антитела составляет от около 900 мг до около 1800 мг антитела, вводимого приблизительно каждые две недели.

117. Способ по п. 115 или 116, в котором эффективная доза антитела составляет около 900, около 950, около 1000, около 1010 мг, около 1020 мг, около 1030 мг, около 1040 мг, около 1050 мг, около 1060 мг, около 1070 мг, около 1080 мг, около 1090 мг, около 1100 мг, около 1110 мг, около 1120 мг, около 1130 мг, около 1140 мг, около 1150 мг, около 1160 мг, около 1170 мг, около 1180 мг, около 1190 мг, около 1200 мг, около 1210 мг, около 1220 мг, около 1230 мг, около 1240 мг, около 1250 мг, около 1260 мг, около 1270 мг, около 1280 мг, около 1290 мг, около 1300 мг, около 1310 мг, около 1320 мг, около 1330 мг, около 1340 мг, около 1350 мг, около 1360 мг, около 1370 мг, около 1380 мг, около 1390 мг, около 1400 мг, около 1410 мг, около 1420 мг, около 1430 мг, около 1440 мг, около 1450 мг, около 1460 мг, около 1470 мг, около 1480 мг, около 1490 мг, около 1500 мг, вводимых приблизительно каждые две недели.

118. Способ по любому из пп. 115-117, в котором эффективная доза антитела составляет около 1200 мг, вводимых приблизительно каждые две недели.

119. Способ по любому из пп. 85-114, в котором анти-PD-1 антитело включает антитело, выбранное из группы, состоящей из ниволумаба, пембролизумаба, PDR001, MEDI-0680, цемиплимаба, торипалимаба, тислизумаба, INCSHR1210, TSR-042, GLS-010, AM-0001, STI-1110, AGEN2034, MGA012, BCD-100, IBI308, KN035, сасанлимаба и любой их комбинации.

120. Способ по любому из пп. 85-114, в котором анти-PD-1 антитело перекрестно конкурирует с ниволумабом за связывание с PD-1 человека.

121. Способ по п. 119, в котором анти-PD-1 антитело включает ниволумаб.

122. Способ по п. 119, в котором анти-PD-1 антитело включает пембролизумаб.

123. Способ по любому из пп. 85-89 и 91-118, в котором анти-PD-L1 антитело включает антитело, выбранное из группы, состоящей из BMS-936559, атезолизумаба, дурвалумаба, авелумаба, STI-1014, CX-072, KN035, LY3300054, BGB-A333, CK-301 и любой их комбинации.

124. Способ по любому из пп. 85-123, в котором субъект поражен раком.

125. Способ по п. 124, в котором рак выбран из группы, состоящей из плоскоклеточной карциномы, мелкоклеточного рака легкого (МРЛ), немелкоклеточного рака легкого (НМРЛ), сквамозного НМРЛ, несквамозного НМРЛ, глиомы, рака желудочно-кишечного тракта, рака почки, прозрачно-клеточной карциномы, рака яичников, рака печени, колоректального рака, рака эндометрия, рака почки, почечно-клеточной карциномы (ПКР), рака простаты, гормонорефрактерной аденокарциномы простаты, рака щитовидной железы, нейробластомы, рака поджелудочной железы, глиобластомы, мультиформной глиобластомы, рака шейки матки, рака желудка, рака мочевого пузыря, гепатомы, рака молочной железы, карциномы толстой кишки, рака головы и шеи, рака желудка, герминогенной опухоли, детской саркомы, синоназального естественного киллера, меланомы, рака костей, рака кожи, рака матки, рака анальной области, рака яичек, карциномы фаллопиевых труб, карциномы эндометрия, карциномы шейки матки, карциномы влагалища, карциномы вульвы, рака пищевода, рака тонкой кишки, рака эндокринной системы, рака паращитовидной железы, рака надпочечников, саркомы мягких тканей, рака уретры, рака полового члена, рака прямой кишки, солидных опухолей детского возраста, рака мочеточника, карциномы почечной лоханки, новообразования центральной нервной системы (ЦНС), первичной лимфомы ЦНС, опухолевого ангиогенеза, опухоли оси позвоночника, рака мозга, глиомы ствола мозга, аденомы гипофиза, саркомы Капоши, эпидермоидного рака, плоскоклеточного рака, рака, вызванного окружающей средой, включая рак, вызванный асбестом, рака, связанного с вирусами или рака вирусного происхождения (например, вирус папилломы человека (опухоли, связанные с ВПЧ или вызванные ВПЧ)), и любой их комбинации.

126. Способ по любому из пп. 85-125, в котором фармацевтическая композиция вводится с помощью автоинжектора.

127. Способ по любому из пп. 85-125, в котором фармацевтическая композиция вводится с помощью носимого насоса.

128. Способ по любому из пп. 85-127, в котором фармацевтическая композиция вводится субъекту путем подкожной инфузии в течение менее чем около 10 минут.

129. Способ по любому из пп. 85-128, в котором фармацевтическая композиция вводится субъекту путем подкожной инфузии в течение менее чем около 5 минут.

130. Способ по любому из пп. 85-129, в котором фармацевтическая композиция дополнительно включает по меньшей мере два антиоксиданта.

131. Способ по п. 130, в котором по меньшей мере два антиоксиданта выбраны из метионина, триптофана, гистидина, цистеина, аскорбиновой кислоты, глицина, DTPA и EDTA.

132. Способ по п. 130 или 131, в котором по меньшей мере два антиоксиданта включают (i) метионин и EDTA или (ii) метионин и DTPA.

133. Способ по любому из пп. 130-132, в котором по меньшей мере два антиоксиданта включают по меньшей мере от около 1 до около 20 мМ метионина.

134. Способ по любому из пп. 130-133, в котором по меньшей мере два антиоксиданта включают по меньшей мере около 1 мМ, по меньшей мере около 1,5 мМ, по меньшей мере около 2 мМ, по меньшей мере около 2,5 мМ, по меньшей мере около 3 мМ, по меньшей мере около 3,5 мМ, по меньшей мере около 4 мМ, по меньшей мере около 4,5 мМ, по меньшей мере около 5 мМ, по меньшей мере около 5,5 мМ, по меньшей мере около 6 мМ, по меньшей мере около 6,5 мМ, по меньшей мере около 7 мМ, по меньшей мере около 7,5 мМ, по меньшей мере около 8 мМ, по меньшей мере около 8,5 мМ, по меньшей мере около 9 мМ, по меньшей мере около 9,5 мМ, по меньшей мере около 10 мМ, по меньшей мере около 11 мМ, по меньшей мере около 12 мМ, по меньшей мере

около 13 мМ, по меньшей мере около 14 мМ, по меньшей мере около 15 мМ, по меньшей мере около 16 мМ, по меньшей мере около 17 мМ, по меньшей мере около 18 мМ, по меньшей мере около 19 мМ или по меньшей мере около 20 мМ метионина.

135. Способ по любому из пп. 130-134, в котором по меньшей мере два антиоксиданта включают около 5 мМ метионина.

136. Способ по любому из пп. 130-135, в котором по меньшей мере два антиоксиданта включают по меньшей мере от около 10 мкМ до около 200 мкМ DTPA.

137. Способ по любому из пп. 130-136, в котором по меньшей мере два антиоксиданта включают по меньшей мере около 10 мкМ, по меньшей мере около 15 мкМ, по меньшей мере около 20 мкМ, по меньшей мере около 25 мкМ, по меньшей мере около 30 мкМ, по меньшей мере около 35 мкМ, по меньшей мере около 40 мкМ, по меньшей мере около 45 мкМ, по меньшей мере около 50 мкМ, по меньшей мере около 55 мкМ, по меньшей мере около 60 мкМ, по меньшей мере около 65 мкМ, по меньшей мере около 70 мкМ, по меньшей мере около 75 мкМ, по меньшей мере около 80 мкМ, по меньшей мере около 85 мкМ, по меньшей мере около 90 мкМ, по меньшей мере около 95 мкМ, по меньшей мере около 100 мкМ, по меньшей мере около 110 мкМ, по меньшей мере около 120 мкМ, по меньшей мере около 130 мкМ, по меньшей мере около 140 мкМ, по меньшей мере около 150 мкМ, по меньшей мере около 160 мкМ, по меньшей мере около 170 мкМ, по меньшей мере около 180 мкМ, по меньшей мере около 190 мкМ или по меньшей мере около 200 мкМ DTPA.

138. Способ по любому из пп. 130-137, в котором по меньшей мере два антиоксиданта включают около 50 мкМ DTPA.

139. Способ по любому из пп. 85-138, в котором фармацевтическая композиция включает от по меньшей мере около 20 мг/мл до по меньшей мере около 200 мг/мл анти-PD-1 антитела.

140. Способ по любому из пп. 85-139, в котором фармацевтическая композиция включает от по меньшей мере около 135 мг/мл до по меньшей мере около 180 мг/мл анти-PD-1 антитела.

141. Способ по любому из пп. 85-140, в котором фармацевтическая композиция включает от по меньшей мере около 108 мг/мл до по меньшей мере около 132 мг/мл анти-PD-1 антитела.

142. Способ по любому из пп. 85-141, в котором фармацевтическая композиция включает по меньшей мере около 20 мг/мл, по меньшей мере около 30 мг/мл, по меньшей мере около 40 мг/мл, по меньшей мере около 50 мг/мл, по меньшей мере около 60 мг/мл, по меньшей мере около 70 мг/мл, по меньшей мере около 80 мг/мл, по меньшей мере около 90 мг/мл, по меньшей мере около 100 мг/мл, по меньшей мере около 110 мг/мл, по меньшей мере около 120 мг/мл, по меньшей мере около 130 мг/мл, по меньшей мере около 140 мг/мл, по меньшей мере около 150 мг/мл, по меньшей мере около 160 мг/мл, по меньшей мере около 170 мг/мл, по меньшей мере около 180 мг/мл, по меньшей мере около 190 мг/мл или по меньшей мере около 200 мг/мл анти-PD-1 антитела.

143. Способ по любому из пп. 85-142, в котором фармацевтическая композиция включает около 120 мг/мл или около 150 мг/мл анти-PD-1 антитела.

144. Способ по любому из пп. 85-143, в котором фармацевтическая композиция дополнительно включает модификатор тоничности и/или стабилизатор.

145. Способ по п. 144, в котором модификатор тоничности и/или стабилизатор включает сахар, аминокислоту, полиол, соль или их комбинацию.

146. Способ по п. 144 или 145, в котором модификатор тоничности и/или стабилизатор выбран из группы, состоящей из сахарозы, сорбита, трегалозы, маннита, глицерина, глицина, лейцина, изолейцина, хлорида натрия, пролина, аргинина, гистидина и любой их комбинации.

147. Способ по любому из пп. 144-146, в котором модификатор тоничности включает сахарозу.

148. Способ по любому из пп. 85-147, в котором фармацевтическая композиция включает от по меньшей мере около 10 мМ до по меньшей мере около 500 мМ сахарозы.

149. Способ по любому из пп. 85-148, в котором фармацевтическая композиция

включает около 250 мМ сахарозы.

150. Способ по любому из пп. 85-149, в котором фармацевтическая композиция дополнительно включает буферный агент.

151. Способ по п. 150, в котором буферный агент выбран из гистидина, сукцината, трометамина, фосфата натрия, ацетата натрия и цитрата натрия.

152. Способ по п. 150 или 151, в котором буферный агент включает гистидин.

153. Способ по любому из пп. 85-152, в котором фармацевтическая композиция включает от по меньшей мере около 5 мМ до по меньшей мере около 100 мМ гистидина.

154. Способ по любому из пп. 85-153, в котором фармацевтическая композиция включает около 20 мМ гистидина.

155. Способ по любому из пп. 85-154, в котором фармацевтическая композиция дополнительно включает поверхностно-активное вещество.

156. Способ по п. 155, в котором поверхностно-активное вещество выбрано из группы, состоящей из полисорбата 20, полисорбата 80 и полоксамера 188.

157. Способ по п. 155 или 156, в котором поверхностно-активное вещество включает полисорбат 80.

158. Способ по любому из пп. 85-157, в котором фармацевтическая композиция включает от по меньшей мере около 0,01% масс./об. до по меньшей мере около 0,1% масс./об. полисорбата 80.

159. Способ по любому из пп. 85-158, в котором фармацевтическая композиция включает около 0,05% масс./об. полисорбата 80.

160. Способ по любому из пп. 85-114, 119-122 и 124-159, в котором фармацевтическая композиция включает:

(a) около 150 мг/мл анти-PD-1 антитела;

(b) около 20 мМ гистидина;

(c) около 250 мМ сахарозы;

(d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80;

(e) около 50 мкМ пентетовой кислоты; и

(f) около 5 мМ метионина.

161. Способ по любому из пп. 85-114, 119-122 и 124-159, в котором фармацевтическая композиция включает:

(a) около 120 мг/мл анти-PD-1 антитела;

(b) около 20 мМ гистидина;

(c) около 250 мМ сахарозы;

(d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80;

(e) около 50 мкМ пентетовой кислоты; и

(f) около 5 мМ метионина.

162. Способ по любому из пп. 85-161, в котором фармацевтическая композиция включает pH от около 5,2 до около 6,8.

163. Способ по любому из пп. 85-162, в котором фармацевтическая композиция включает pH около 6,0.

164. Фармацевтическая композиция для применения в способе по любому из пп. 85-163.

165. Единичная доза, включающая:

(a) около 150 мг/мл анти-PD-1 антитела;

(b) около 20 мМ гистидина;

(c) около 250 мМ сахарозы;

(d) около 0,05% масс./об. полисорбата 80;

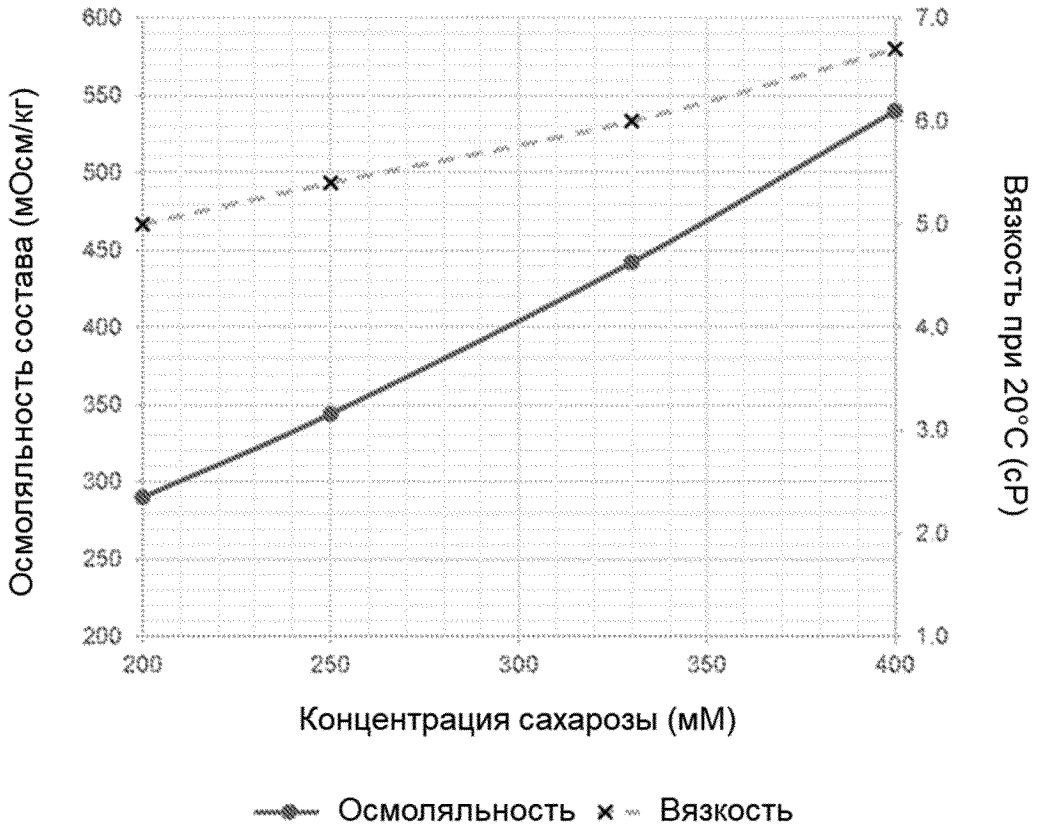
(e) около 50 мкМ пентетовой кислоты; и

(f) около 5 мМ метионина.

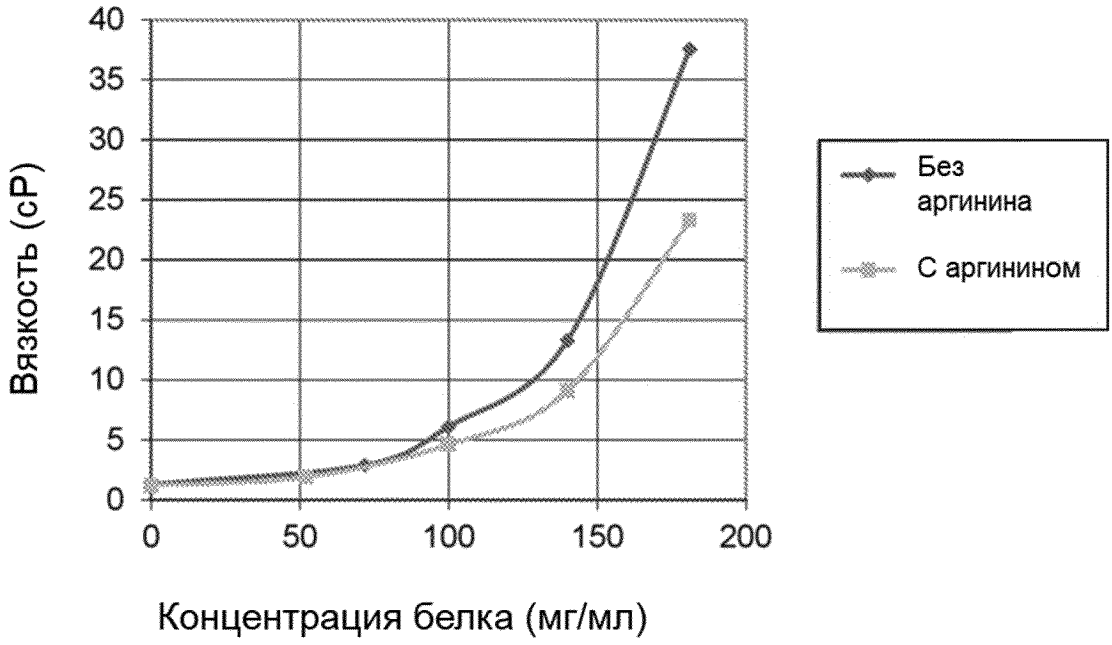
166. Автоинжектор, содержащий единичную дозу по п. 165.

167. Носимое устройство, содержащее единичную дозу по п. 165.

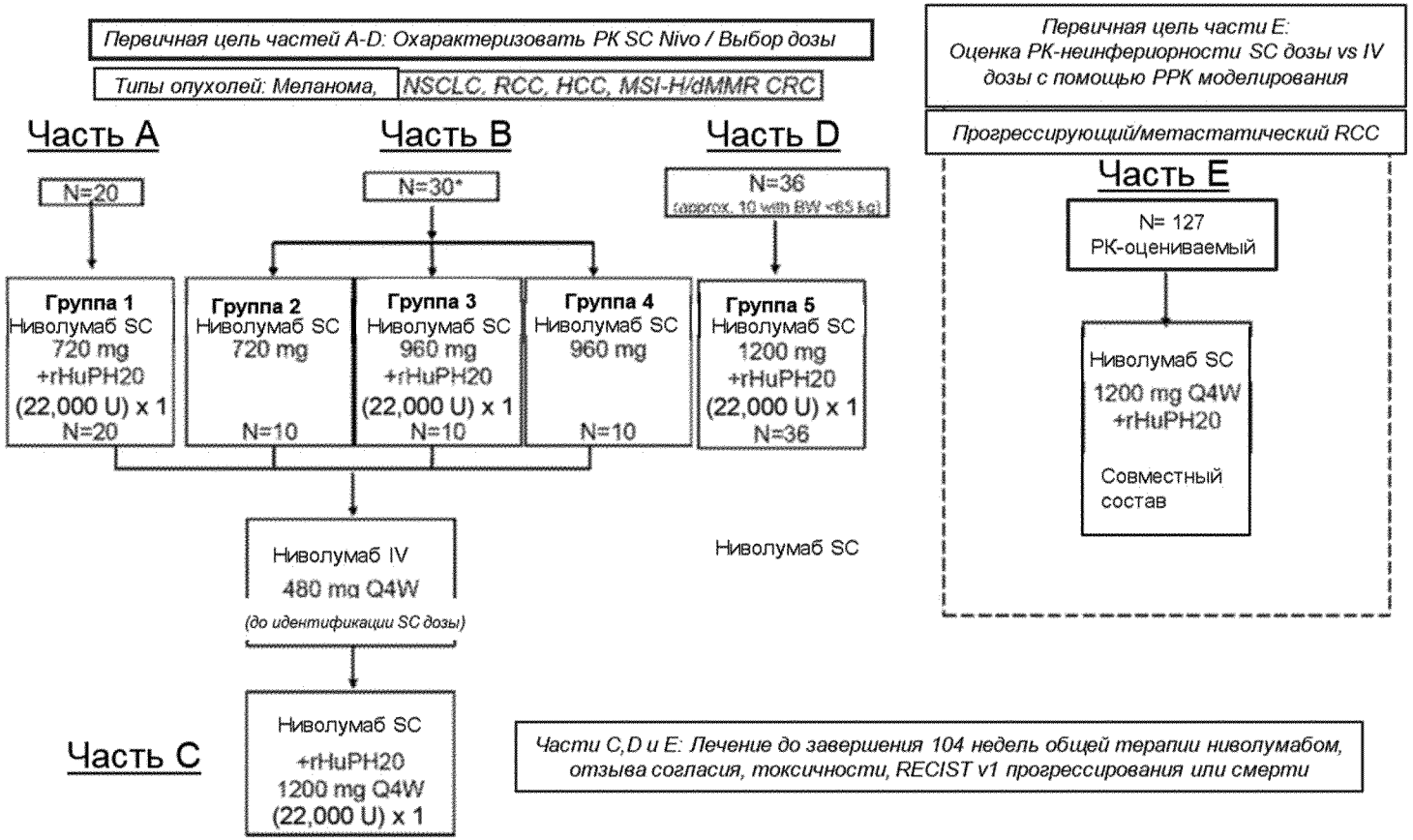
ФИГ. 1


Осмоляльность состава (мОсм/кг)
600
550
500
450
400
350
300
250
200
Вязкость при 20°C (cP)
7.0
6.0
5.0
4.0
3.0
2.0
1.0
200
250
300
350
400
Концентрация сахарозы (мМ)
Осмоляльность
Вязкость

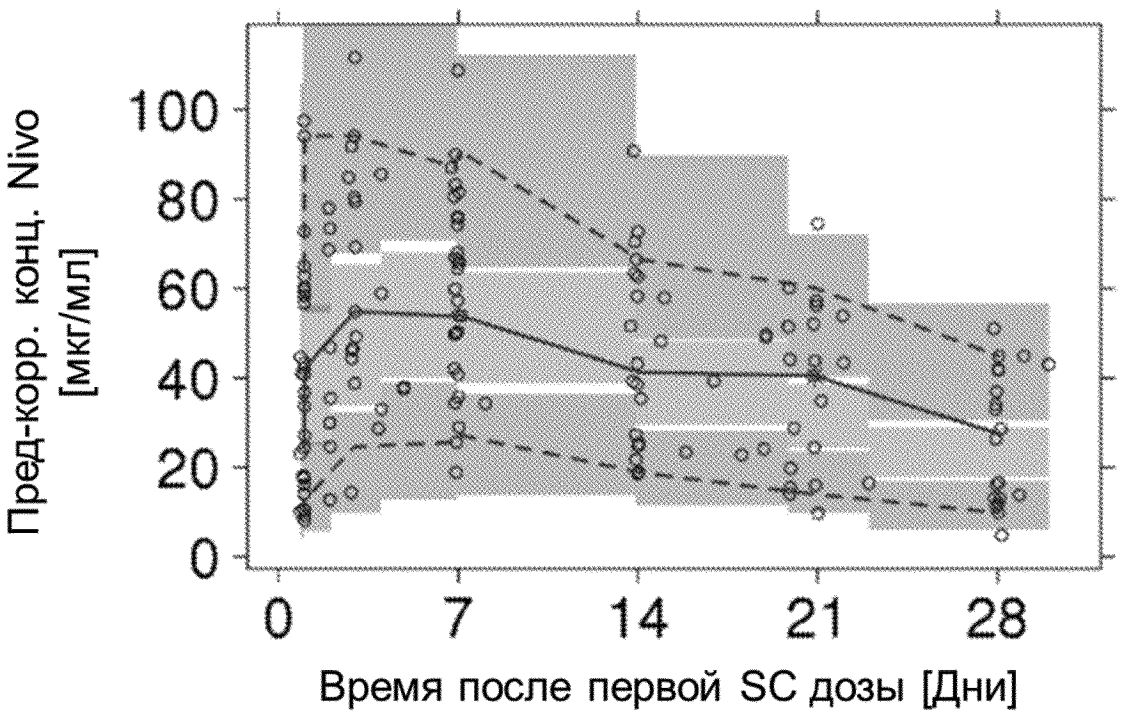
ФИГ. 2


40
35
30
25
20
15
10
5
0
Вязкость (cP)
0
50
100
150
200
Концентрация белка (мг/мл)
Без аргинина
С аргинином

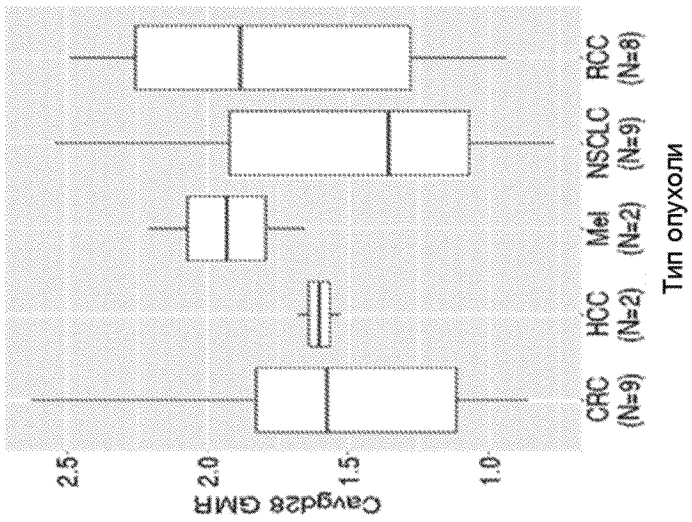
ФИГ. 3


Первичная цель частей A-D: Охарактеризовать PK SC Nivo / Выбор дозы
Типы опухолей: Меланома, NSCLC, RCC, HCC, MSI-H/dMMR CRC
Часть A
N=20
Часть B
N=30*
Часть D
N=36
(approx. 10 with BW <65 kg)
Группа 1
Ниволумаб SC
720 mg
+rHuPH20
(22,000 U) x 1
N=20
Группа 2
Ниволумаб SC
720 mg
N=10
Группа 3
Ниволумаб SC
960 mg
+rHuPH20
(22,000 U) x 1
N=10
Группа 4
Ниволумаб SC
960 mg
N=10
Группа 5
Ниволумаб SC
1200 mg
+rHuPH20
(22,000 U) x 1
N=36
Ниволумаб IV
480 mg Q4W
(до идентификации SC дозы)
Ниволумаб SC
Часть C
Ниволумаб SC
+rHuPH20
1200 mg Q4W
(22,000 U) x 1
Первичная цель части E:
Оценка PK-неинферiорности SC дозы vs IV
дозы с помощью PPK моделирования
Прогрессирующий/метастатический RCC
Часть E
N= 127
PK-оцениваемый
Ниволумаб SC
1200 mg Q4W
+rHuPH20
Совместный
состав
Части C,D и E: Лечение до завершения 104 недель общей терапии ниволумабом,
отзыва согласия, токсичности, RECIST v1 прогрессирования или смерти

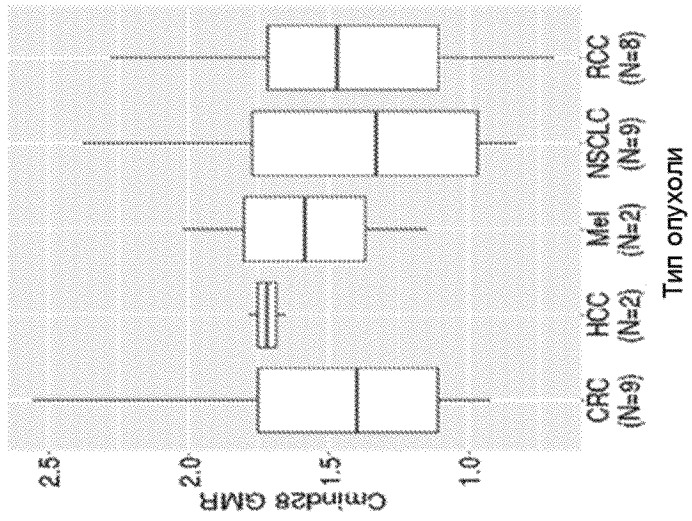
ФИГ. 4


Пред-корр. конц. Nivo
[мкг/мл]
100
80
60
40
20
0
0
7
14
21
28
Время после первой SC дозы [Дни]

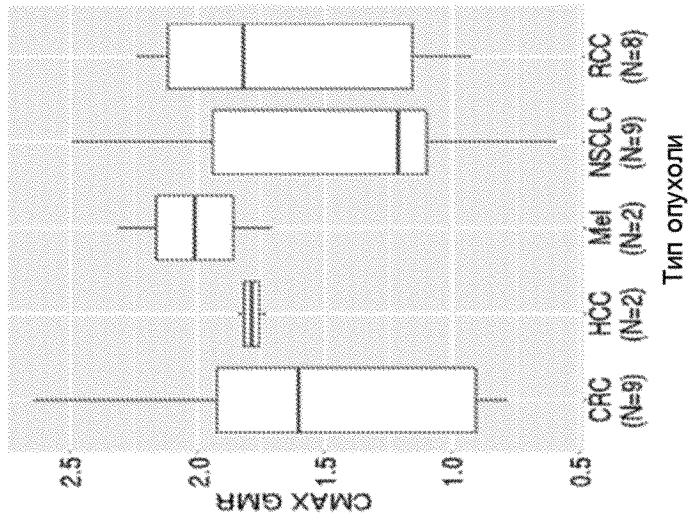
ФИГ. 5А



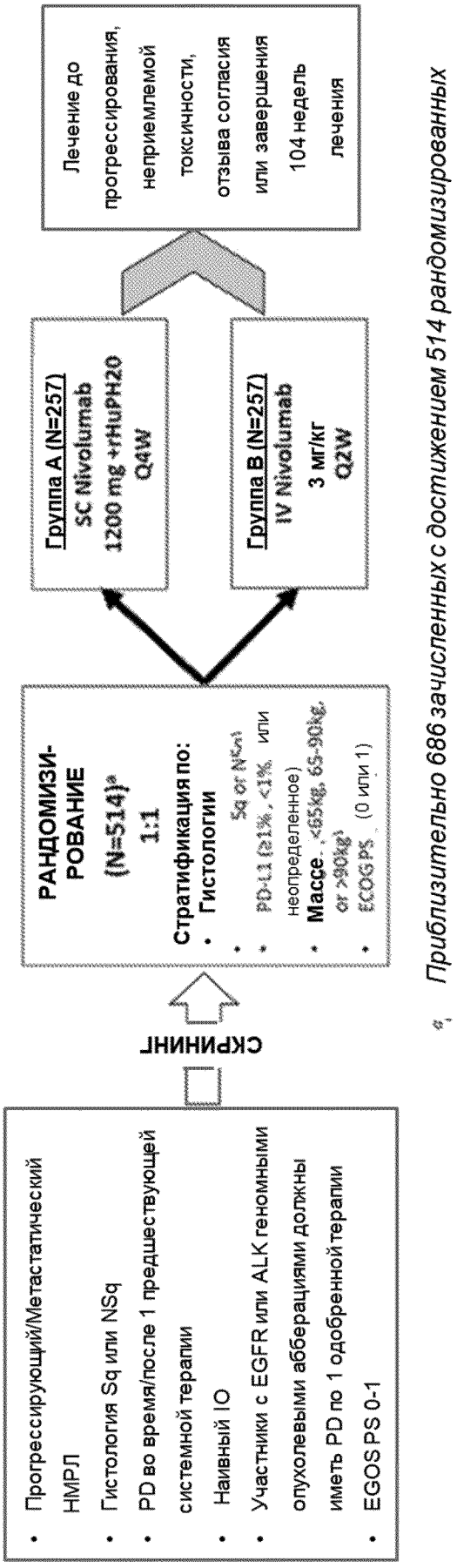
ФИГ. 5В



ФИГ. 5С

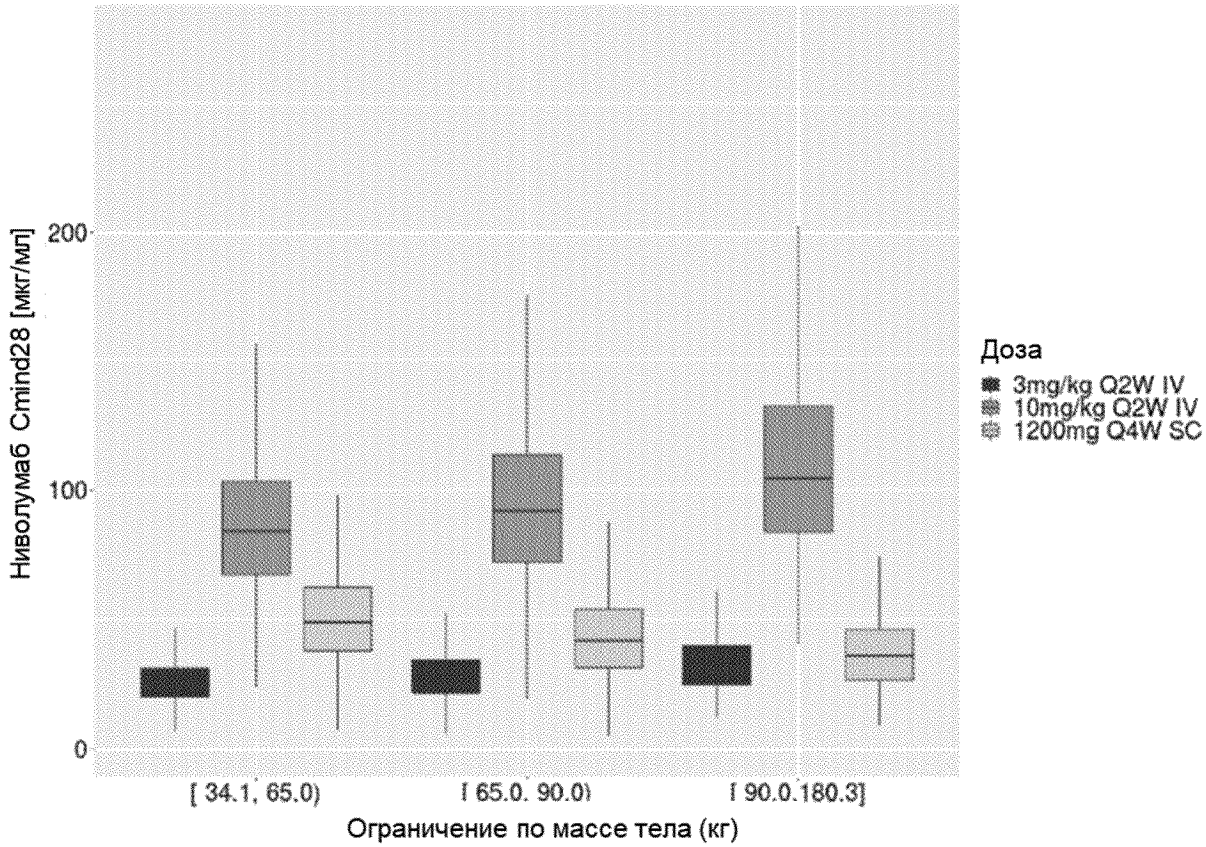


ФИГ. 6

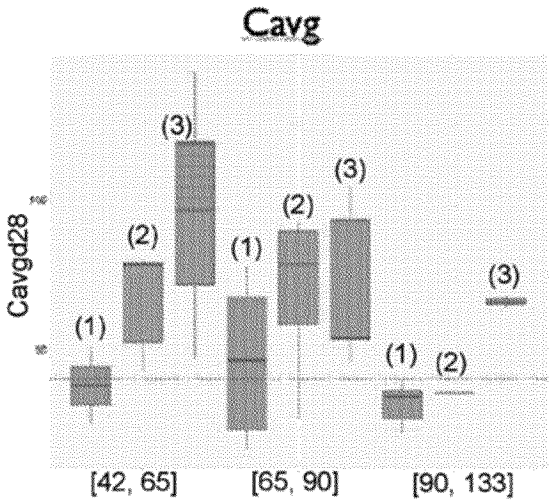


a Приблизительно 686 зачисленных с достижением 514 рандомизированных

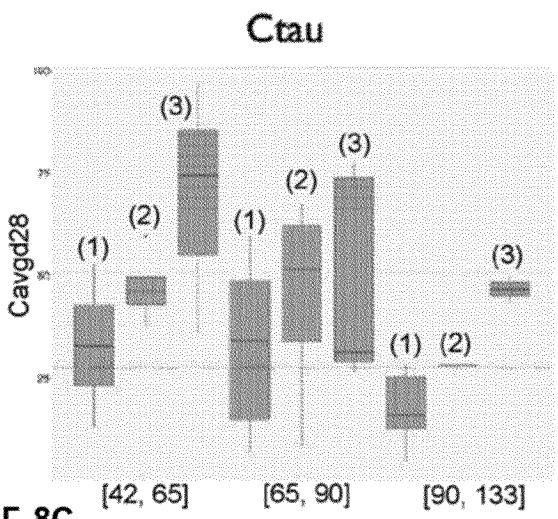
ФИГ. 7


Ниволумаб Cmind28 [мкг/мл]
200
100
0
[34.1, 65.0)
[65.0, 90.0)
[90.0,180.3]
Ограничение по массе тела (кг)
Доза
3mg/kg Q2W IV
10mg/kg Q2W IV
1200mg Q4W SC

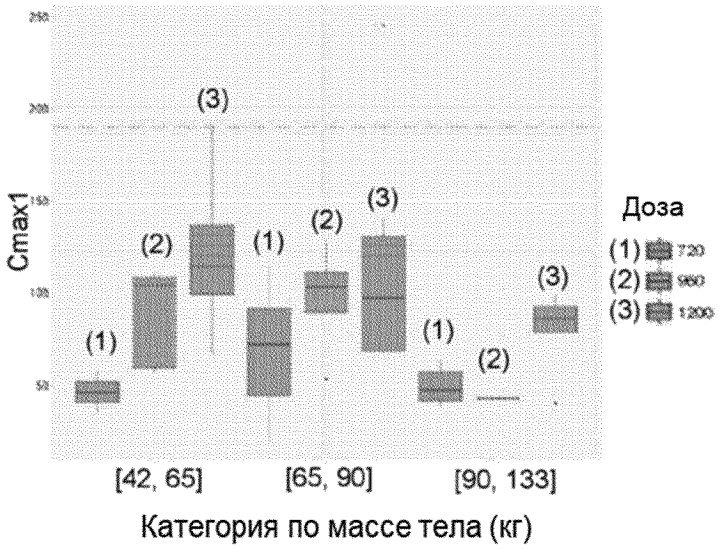
ФИГ. 8A



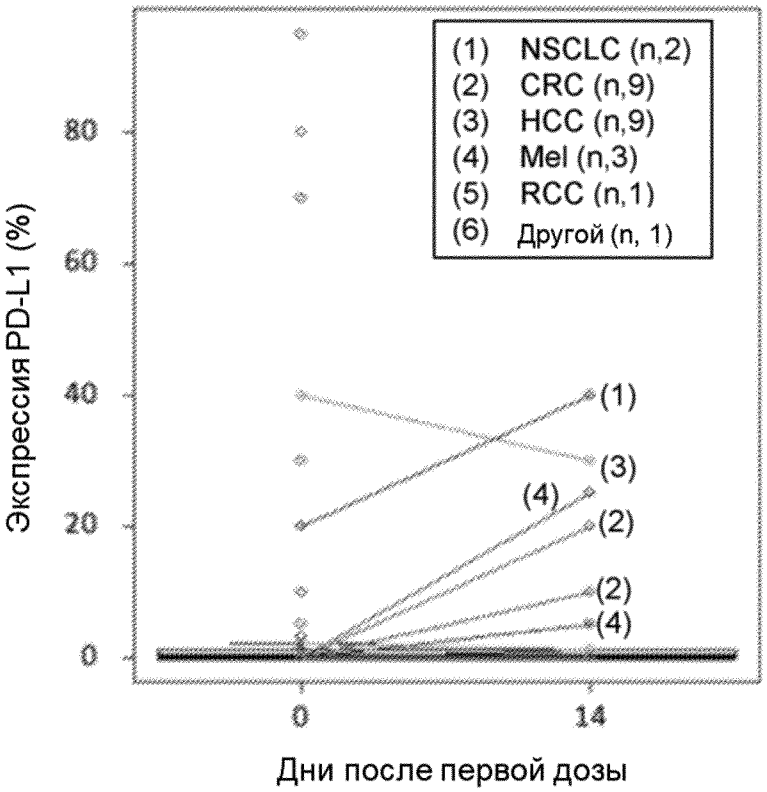
ФИГ. 8B



ФИГ. 8C

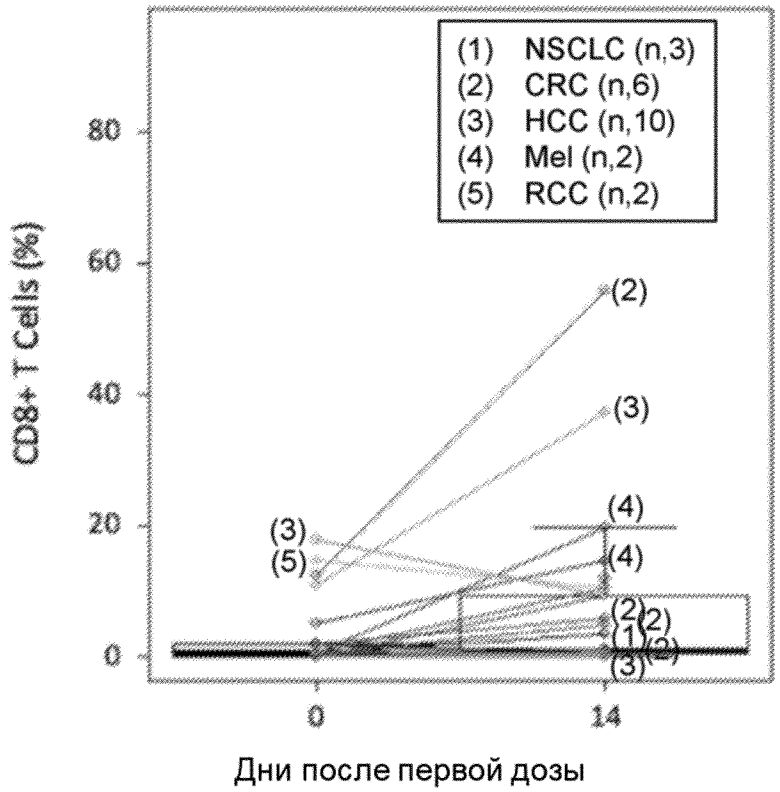


ФИГ. 9В



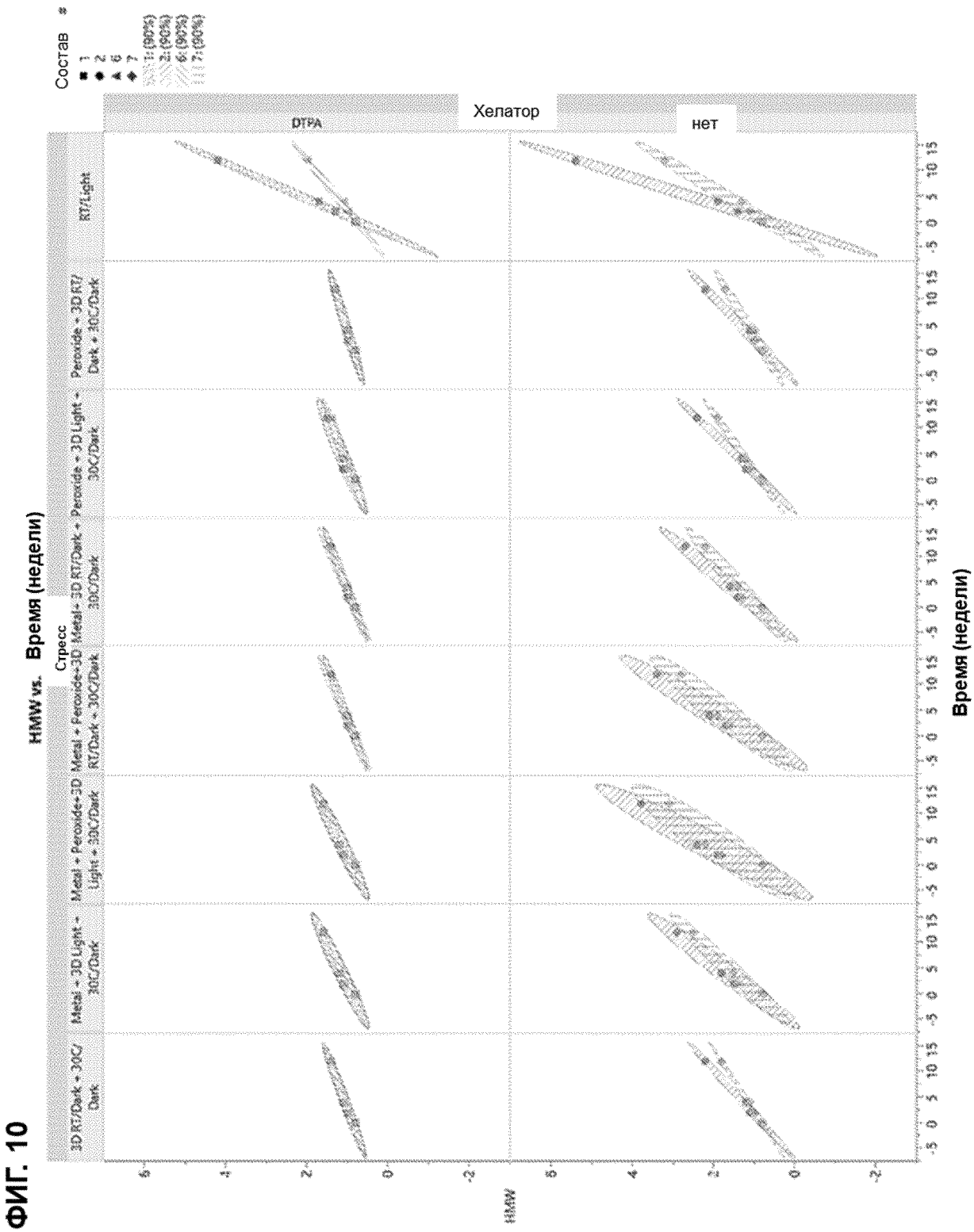
Среднее изменение [95% CI] = 2.8% [-12.8, 18.4]

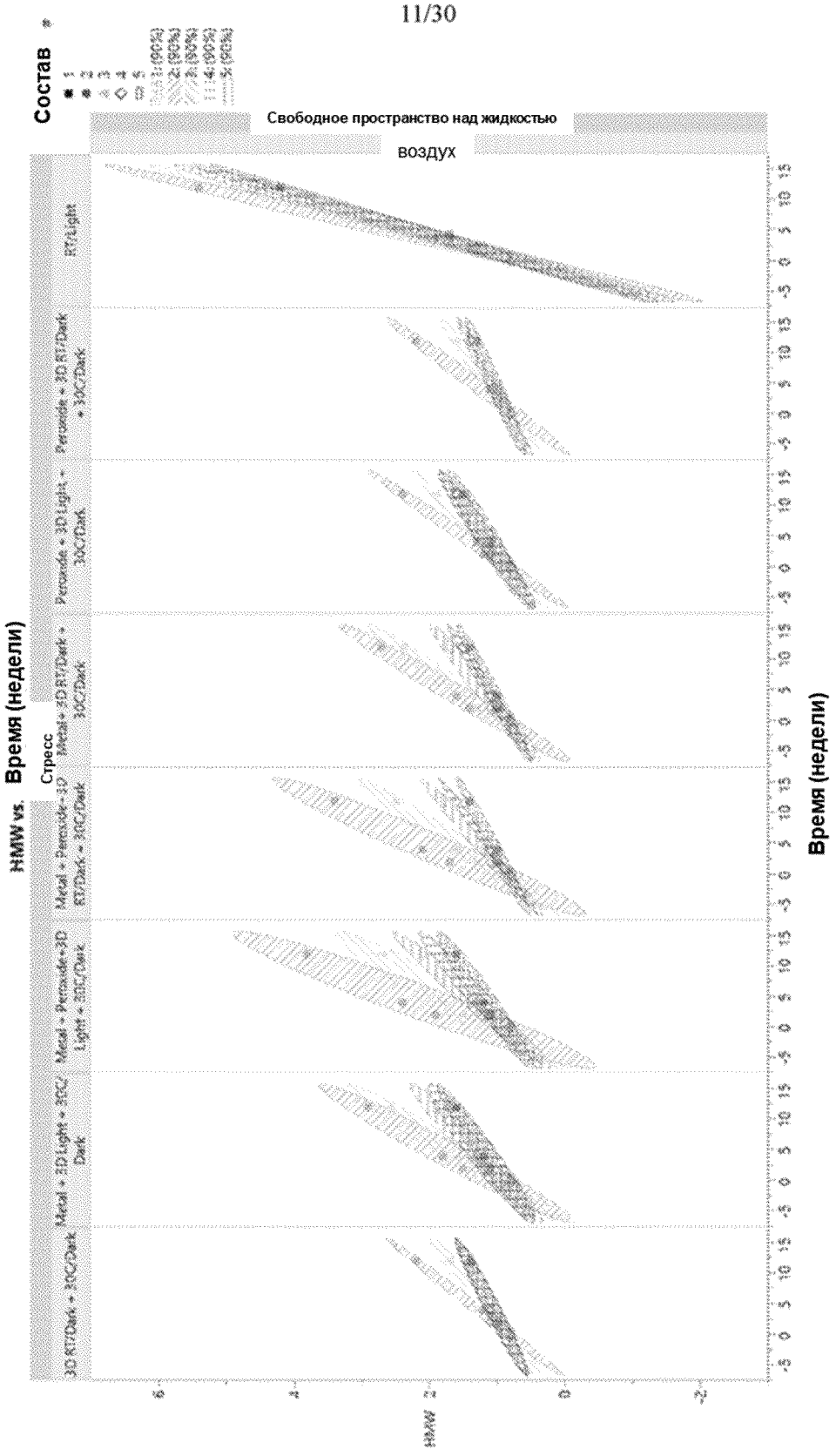
ФИГ. 9А



Среднее изменение [95% CI] = 5.0% [-17.5, 27.5]

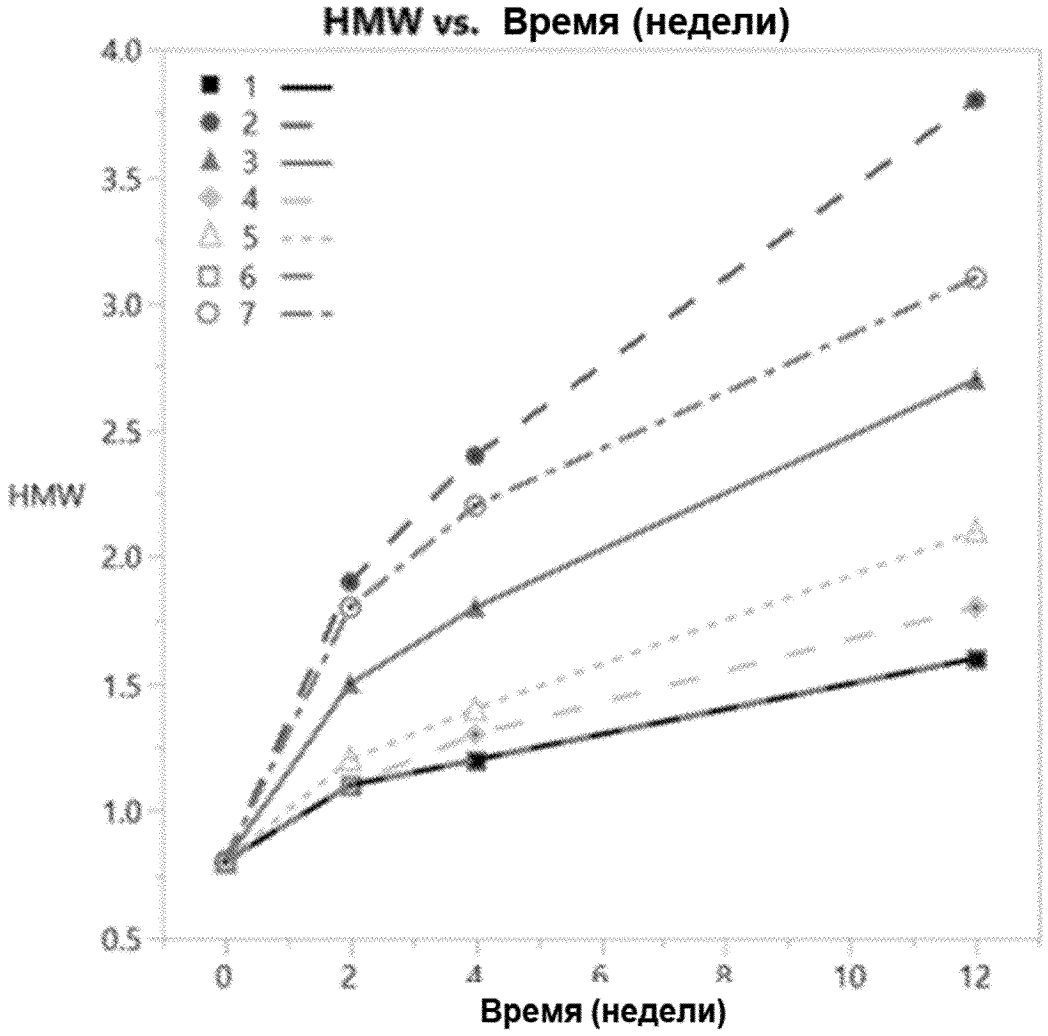
ФИГ. 10


HMW vs. Время (недели)
Состав #
1
2
6
7
1: (90%)
2: (90%)
6: (90%)
7: (90%)
Хелатор
DTPA
нет
Стресс
3D RT/Dark + 30C/Dark
Metal - 3D Light + 30C/Dark
Metal + Peroxide+3D Light + 30C/Dark
Metal + Peroxide+3D RT/Dark + 30C/Dark
Metal - 3D RT/Dark + 30C/Dark
Peroxide + 3D Light - 30C/Dark
Peroxide + 3D RT/ Dark + 30C/Dark
RT/Light
HMW
Время (недели)

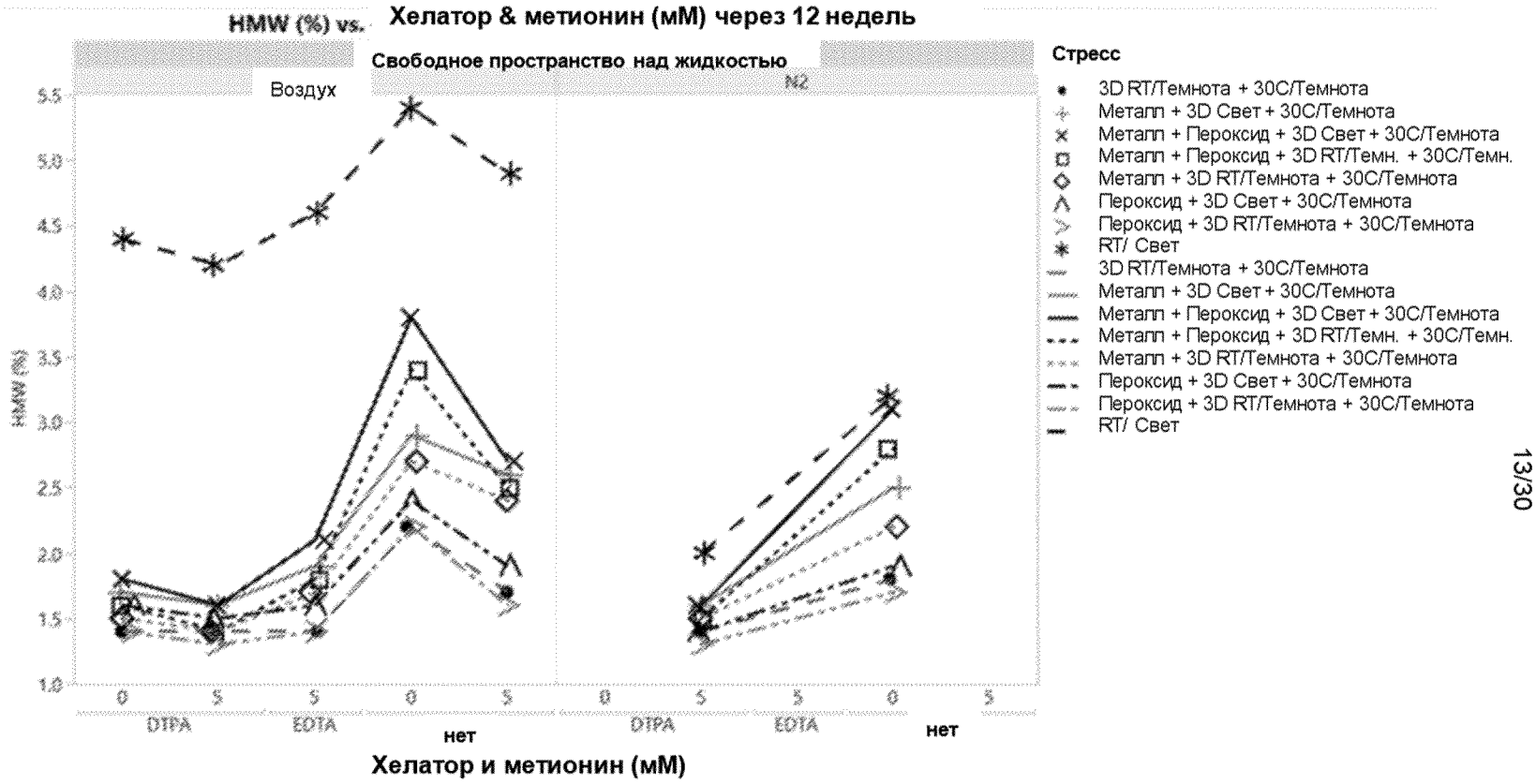

Состав
1
2
3
4
5
1 (95%)
2 (95%)
3 (95%)
4 (95%)
5 (95%)
Свободное пространство над жидкостью
воздух
HMW vs. Время (недели)
Стресс
3D RT/Dark + 30C/Dark
Metal + 3D Light + 30C/Dark
Metal + Peroxide+3D Light + 30C/Dark
Metal + Peroxide+3D RT/Dark + 30C/Dark
Metal + 3D RT/Dark + 30C/Dark
Peroxide + 3D Light + 30C/Dark
Peroxide + 3D RT/Dark + 30C/Dark
RT/Light
HMW
Время (недели)

ФИГ. 11

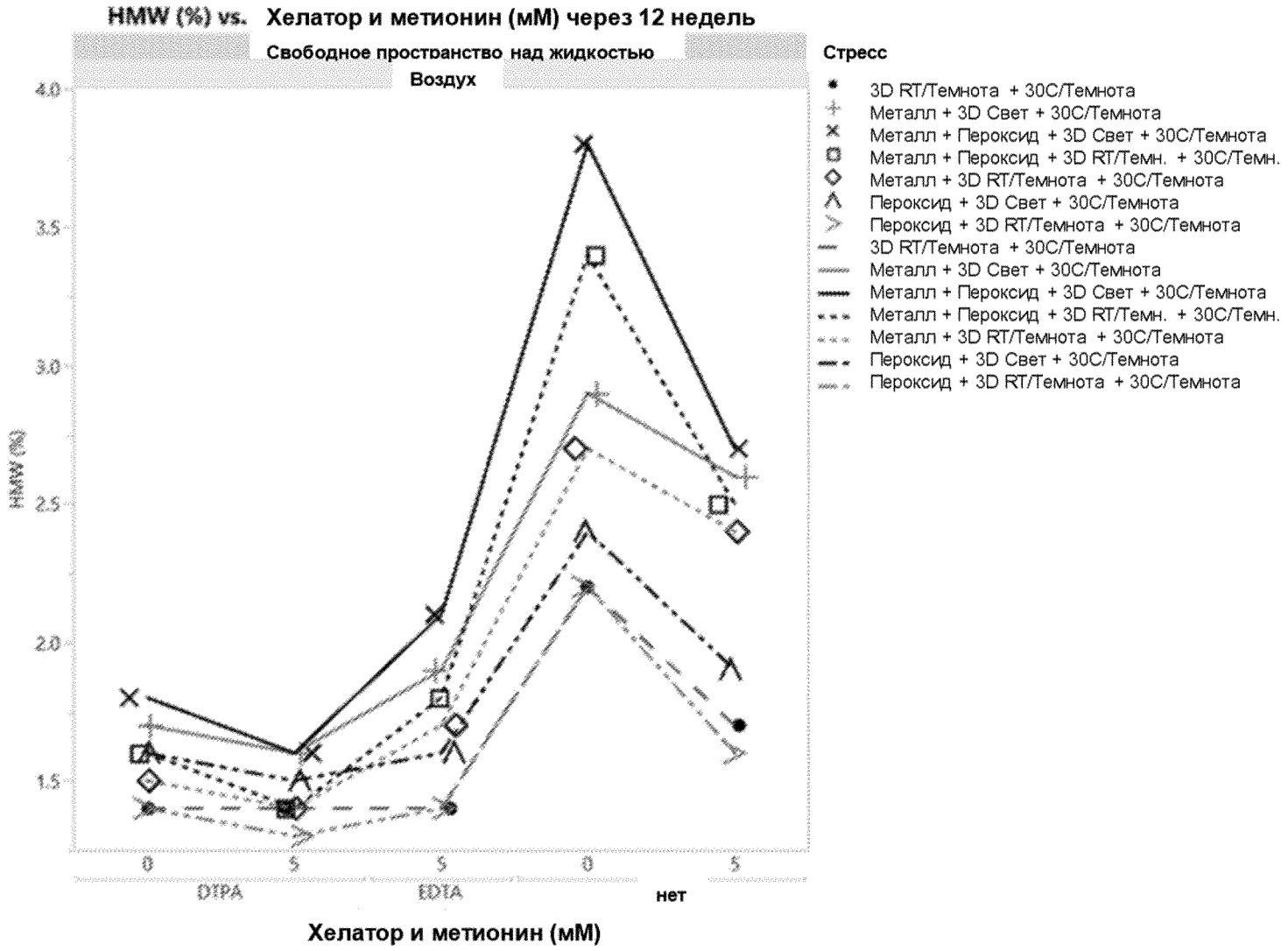
ФИГ. 12


HMW vs. Время (недели)
HMW
Время (недели)
1
2
3
4
5
6
7
4.0
3.5
3.0
2.5
2.0
1.5
1.0
0.5
0
2
4
6
8
10
12

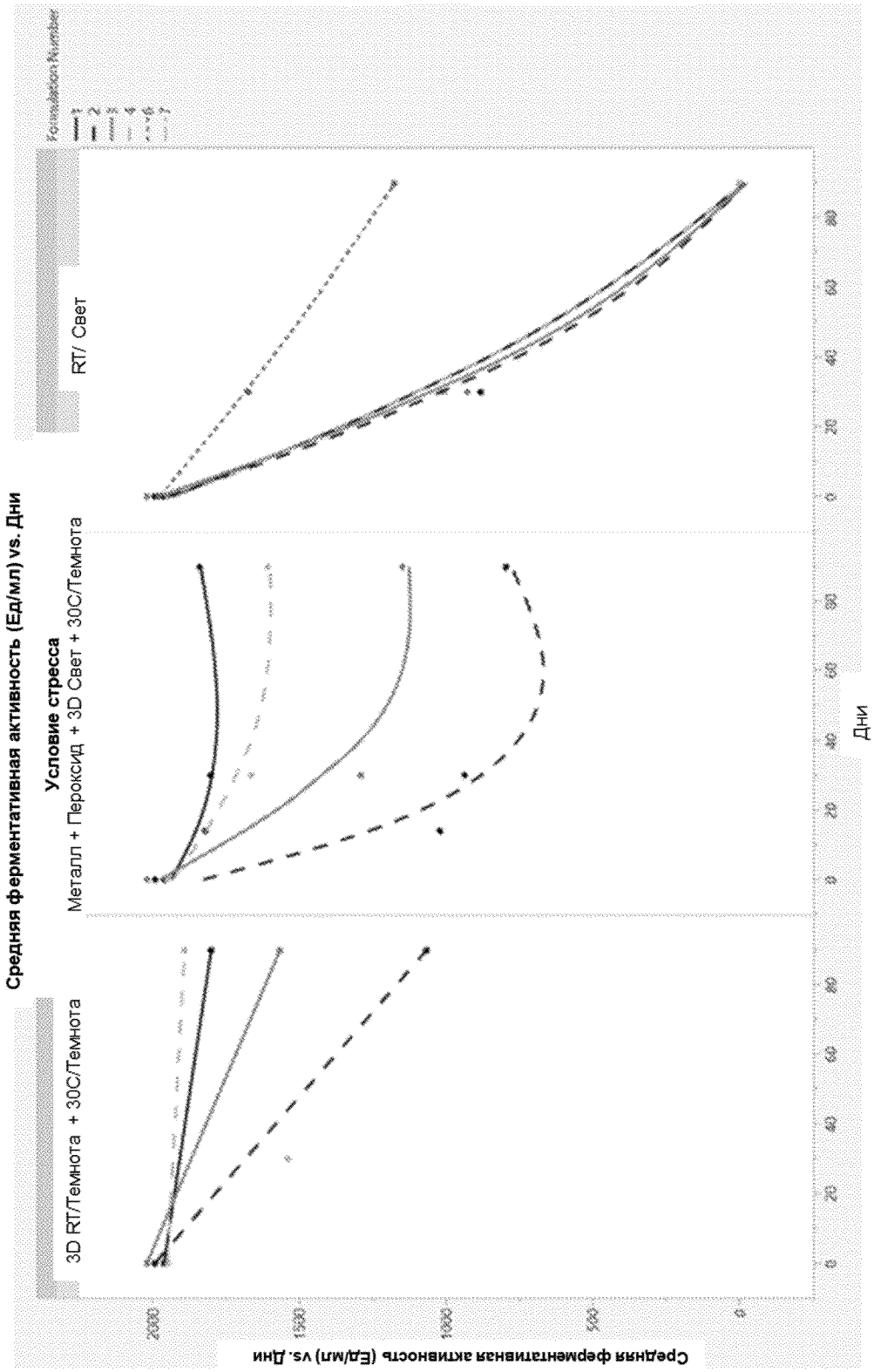
ФИГ. 13

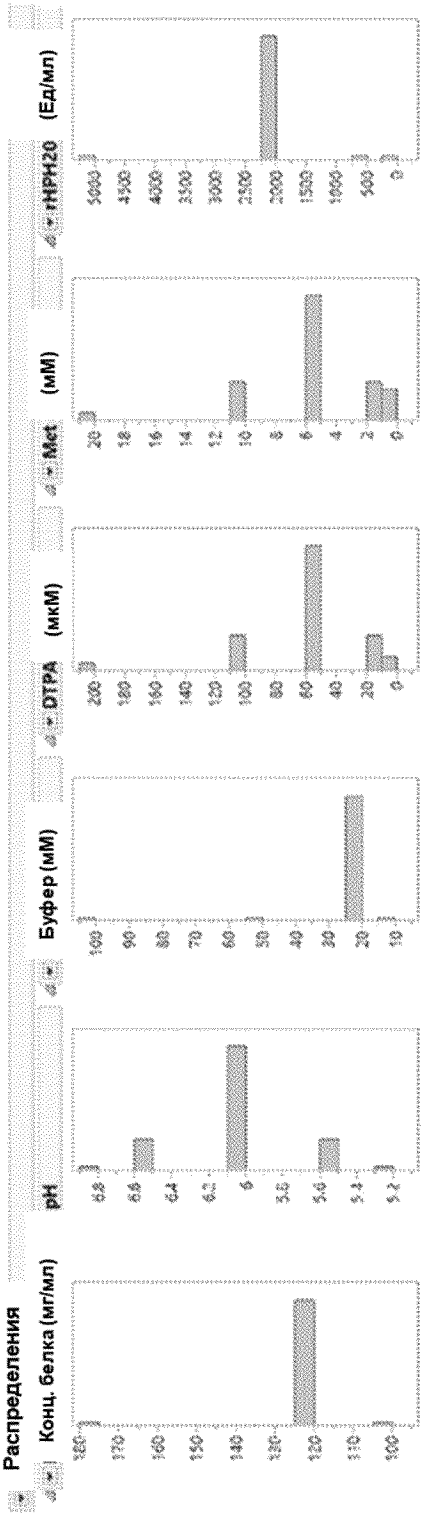

HMW (%) vs. Хелатор & метионин (мМ) через 12 недель
Свободное пространство над жидкостью
Воздух
N2
HMW (%)
5.5
5.0
4.5
4.0
3.5
3.0
2.5
2.0
1.5
1.0
0
5
5
0
5
0
5
5
0
5
DTPA
EDTA
нет
DTPA
EDTA
нет
Хелатор и метионин (мМ)
Стресс
3D RT/Темнота + 30C/Темнота
Металл + 3D Свет + 30C/Темнота
Металл + Пероксид + 3D Свет + 30C/Темнота
Металл + Пероксид + 3D RT/Темн. + 30C/Темн.
Металл + 3D RT/Темнота + 30C/Темнота
Пероксид + 3D Свет + 30C/Темнота
Пероксид + 3D RT/Темнота + 30C/Темнота
RT/ Свет
3D RT/Темнота + 30C/Темнота
Металл + 3D Свет + 30C/Темнота
Металл + Пероксид + 3D Свет + 30C/Темнота
Металл + Пероксид + 3D RT/Темн. + 30C/Темн.
Металл + 3D RT/Темнота + 30C/Темнота
Пероксид + 3D Свет + 30C/Темнота
Пероксид + 3D RT/Темнота + 30C/Темнота
RT/ Свет

ФИГ. 14


HMW (%) vs. Хелатор и метионин (мМ) через 12 недель
Свободное пространство над жидкостью
Воздух
HMW (%)
4.0
3.5
3.0
2.5
2.0
1.5
0
5
5
0
5
DTPA
EDTA
нет
Хелатор и метионин (мМ)
Стресс
3D RT/Темнота + 30C/Темнота
Металл + 3D Свет + 30C/Темнота
Металл + Пероксид + 3D Свет + 30C/Темнота
Металл + Пероксид + 3D RT/Темн. + 30C/Темн.
Металл + 3D RT/Темнота + 30C/Темнота
Пероксид + 3D Свет + 30C/Темнота
Пероксид + 3D RT/Темнота + 30C/Темнота
3D RT/Темнота + 30C/Темнота
Металл + 3D Свет + 30C/Темнота
Металл + Пероксид + 3D Свет + 30C/Темнота
Металл + Пероксид + 3D RT/Темн. + 30C/Темн.
Металл + 3D RT/Темнота + 30C/Темнота
Пероксид + 3D Свет + 30C/Темнота
Пероксид + 3D RT/Темнота + 30C/Темнота

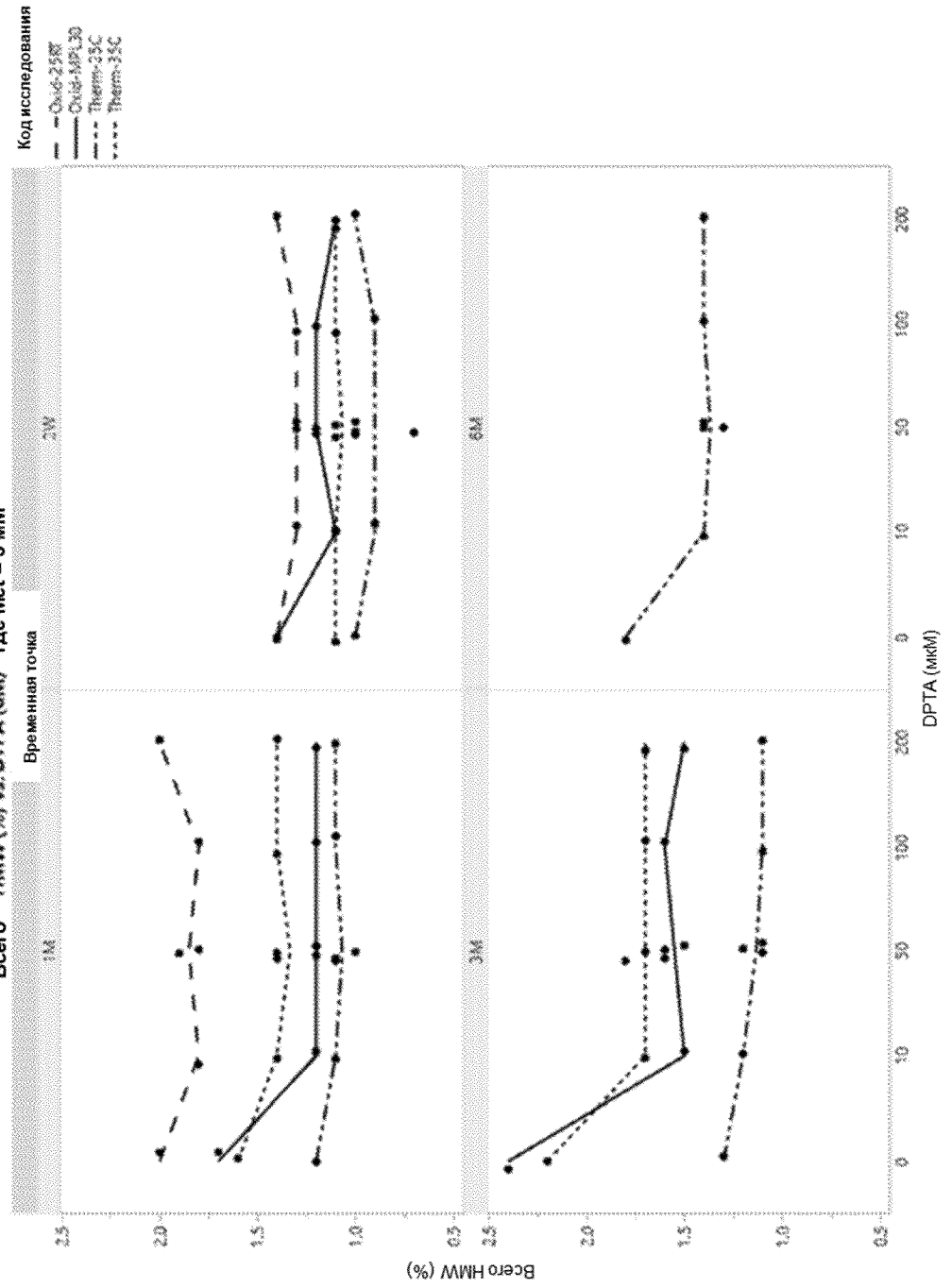
ФИГ. 15


Средняя ферментативная активность (Ед/мл) vs. Дни
Условие стресса
3D RT/Темнота + 30C/Темнота
Металл + Пероксид + 3D Свет + 30C/Темнота
RT/ Свет
Formulation Number
Средняя ферментативная активность (Ед/мл) vs. Дни
Дни

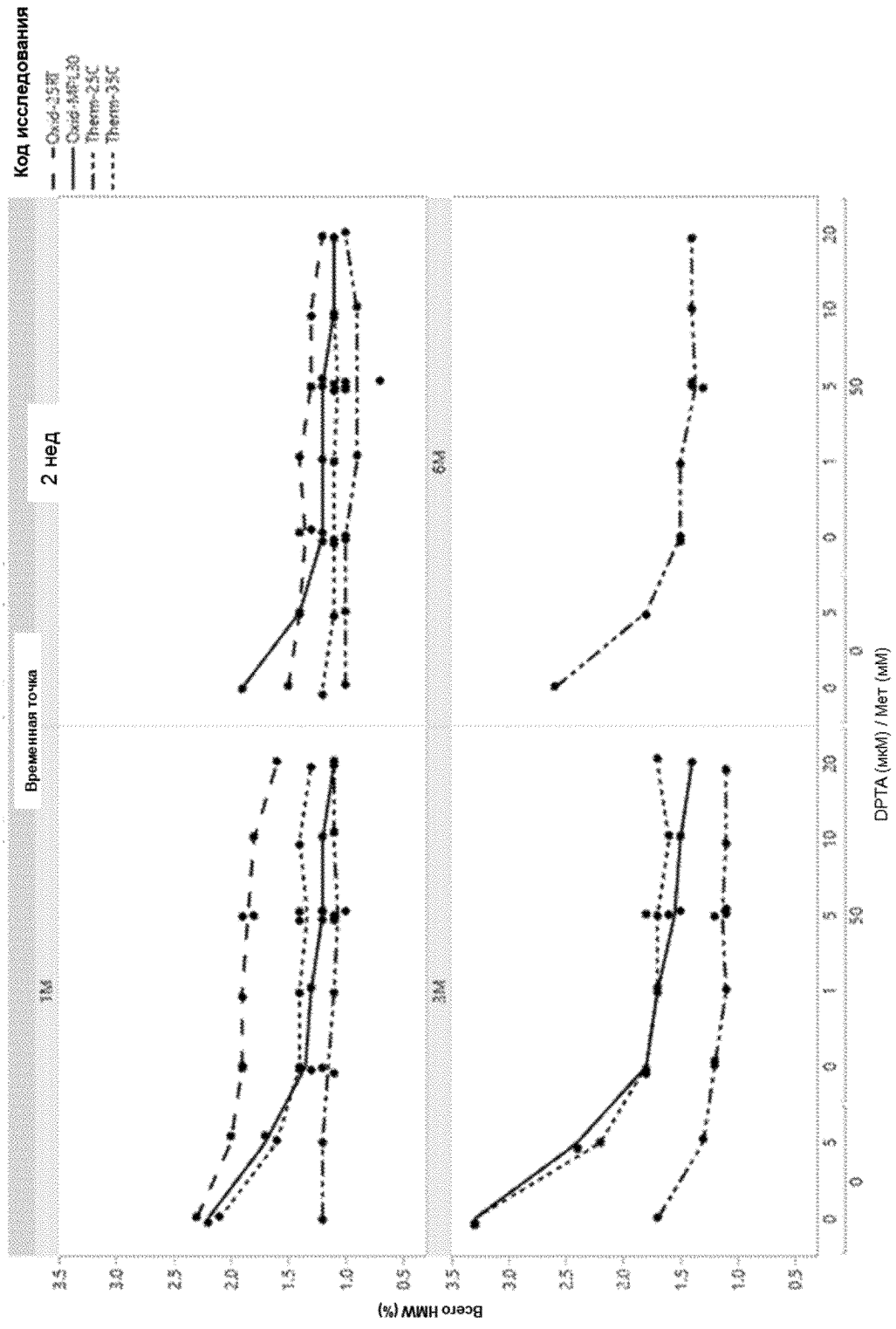


ФИГ. 16A ФИГ. 16B ФИГ. 16C ФИГ. 16D ФИГ. 16E ФИГ. 16F

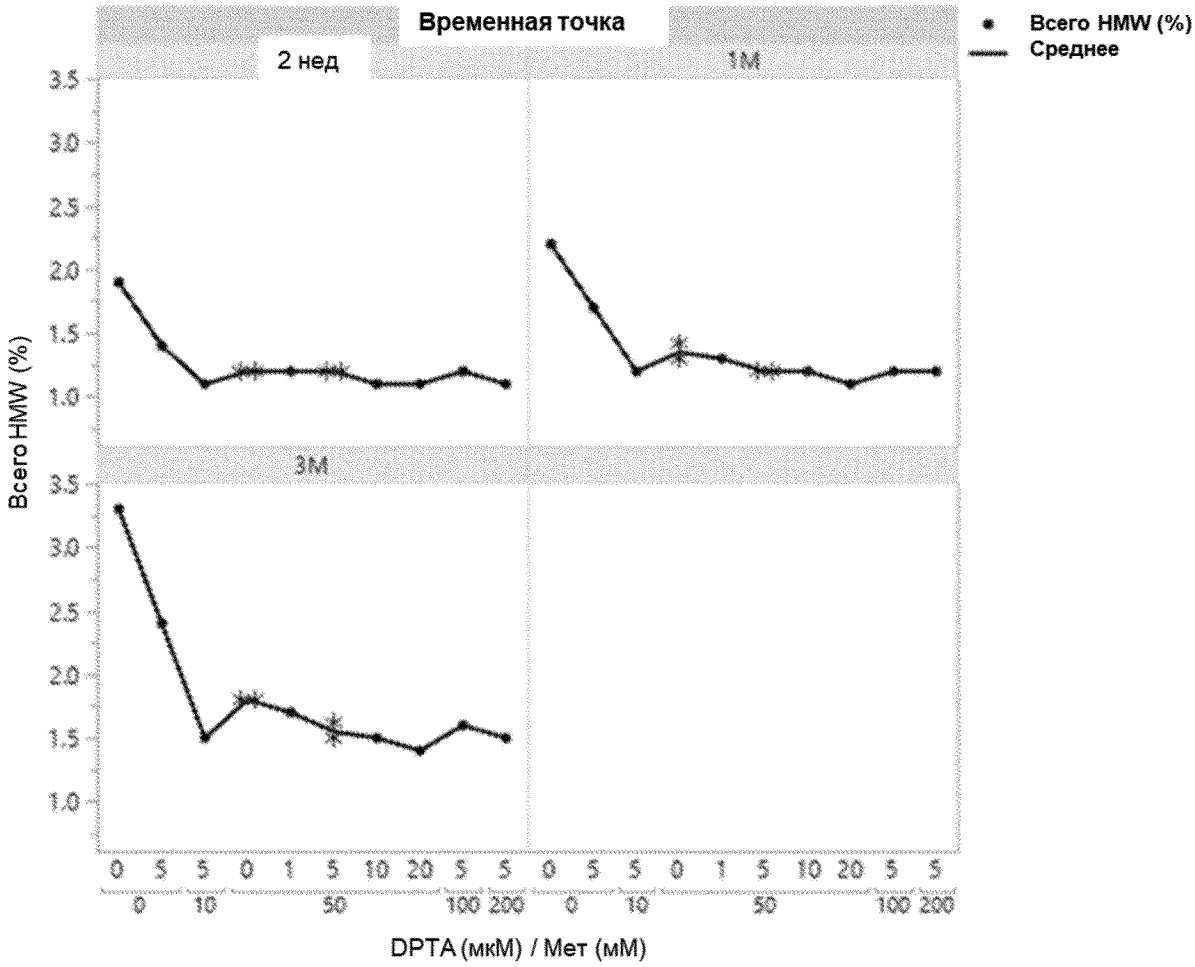
ФИГ. 17


Всего HMW (%) vs. DTPA (uM) где Met = 5 мМ
Код исследования
Chk-25R
Chk-MPL30
Therm-35C
Therm-35C
Временная точка
1M
2M
3M
6M
Всего HMW (%)
DPTA (мкМ)

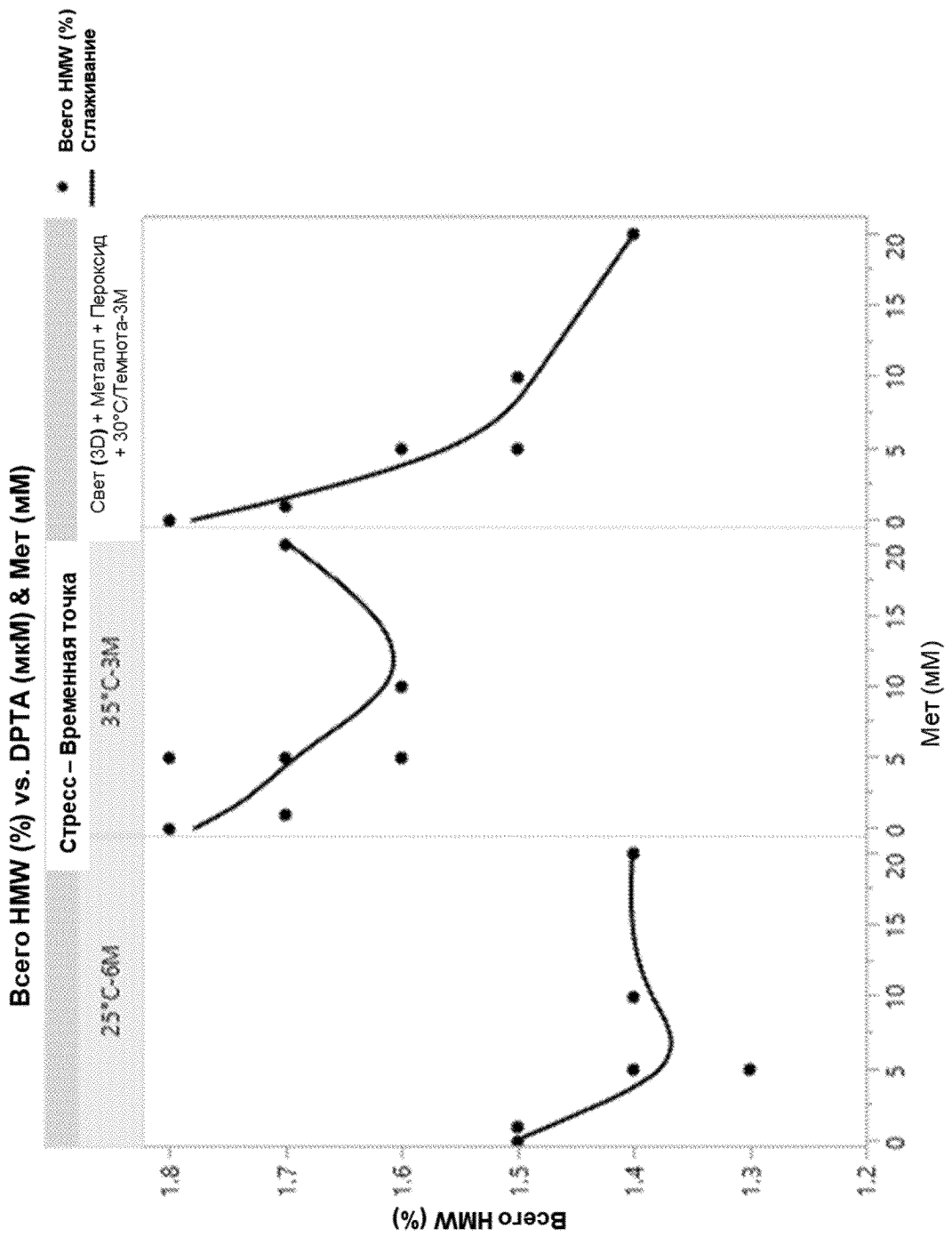
ФИГ. 18


Всего HMW (%) vs. DPTA (мкМ) & Мет (мМ)
Код исследования
Oxid-25IT
Oxid-MET30
Therm-25C
Therm-35C
Временная точка
1 нед
2 нед
1M
3M
6M
Всего HMW (%)
DPTA (мкМ) / Мет (мМ)

ФИГ. 19

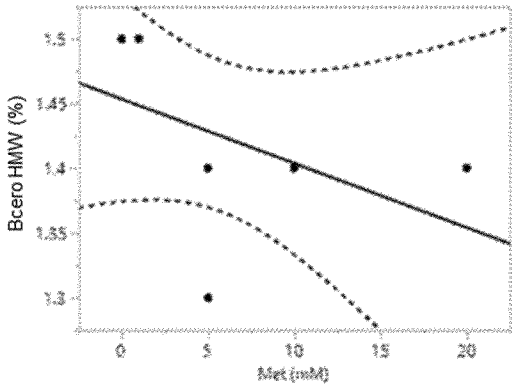

Временная точка
2 нед
1М
3М
Всего HMW (%)
Среднее
Всего HMW (%)
3.5
3.0
2.5
2.0
1.5
1.0
0 5 5 0 1 5 10 20 5 5
0 10 50 100 200
DPTA (мкМ) / Мет (мМ)

ФИГ. 20


Всего HMW (%) vs. DPTA (мкМ) & Мет (мМ)
Стресс – Временная точка
25°C-6M
35°C-3M
Свет (3D) + Металл + Пероксид + 30°C/Темнота-3M
Всего HMW (%)
Сглаживание
Всего HMW (%)
Мет (мМ)

ФИГ. 21A

Всего HMW (%) при мет (мМ) стрессе – Момент времени = 25°C – 6M



Linear Fit

Линейная аппроксимация

Total HMW (%) = 1.4536116 - 0.0049759*Met (mM)

Сводка параметров аппроксимации

RSquare	0.220562
RSquare Adj	0.090423
Root Mean Square Error	0.067438
Mean of Response	1.425
Observations (or Sum Wgts)	8

Без аппроксимации

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio
Lack Of Fit	3	0.02062065	0.006874	3.0931
Pure Error	3	0.00666667	0.002222	Prob > F
Total Error	6	0.02728732		0.1893
				Max RSq
				0.9095

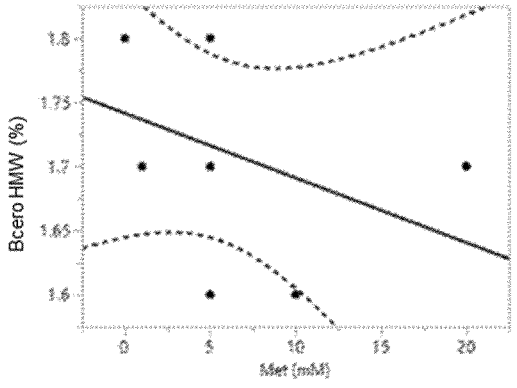
Дисперсионный анализ

Оценки параметров

Term	Estimate	Std Error	t Ratio	Prob>|t|
Intercept	1.4536116	0.032422	44.83	<.0001*
Met (mM)	-0.004976	0.003821	-1.30	0.2406

ФИГ. 21B

Всего HMW (%) при мет (мМ) стрессе– Момент времени = 35°C – 3M



Linear Fit

Линейная аппроксимация

Total HMW (%) = 1.741573 - 0.0050562*Met (mM)

Сводка параметров аппроксимации

RSquare	0.163354
RSquare Adj	0.023912
Root Mean Square Error	0.082448
Mean of Response	1.7125
Observations (or Sum Wgts)	8

Без аппроксимации

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio
Lack Of Fit	3	0.02078652	0.006929	1.0393
Pure Error	3	0.02000000	0.006667	Prob > F
Total Error	6	0.04078652		0.4877
				Max RSq
				0.5807

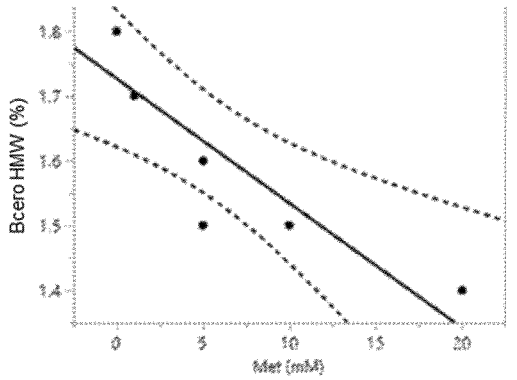
Дисперсионный анализ

Оценки параметров

Term	Estimate	Std Error	t Ratio	Prob>|t|
Intercept	1.741573	0.039639	43.94	<.0001*
Met (mM)	-0.005056	0.004671	-1.08	0.3207

ФИГ. 21C

Всего HMW (%) при мет (мМ) стрессе– Момент времени = Свет (3D) + Металл + Пероксид + 30°C/Темнота-3M



Linear Fit

Линейная аппроксимация

Total HMW (%) = 1.727068 - 0.0192555*Met (mM)

Сводка параметров аппроксимации

RSquare	0.775775
RSquare Adj	0.73093
Root Mean Square Error	0.081625
Mean of Response	1.614286
Observations (or Sum Wgts)	7

Без аппроксимации

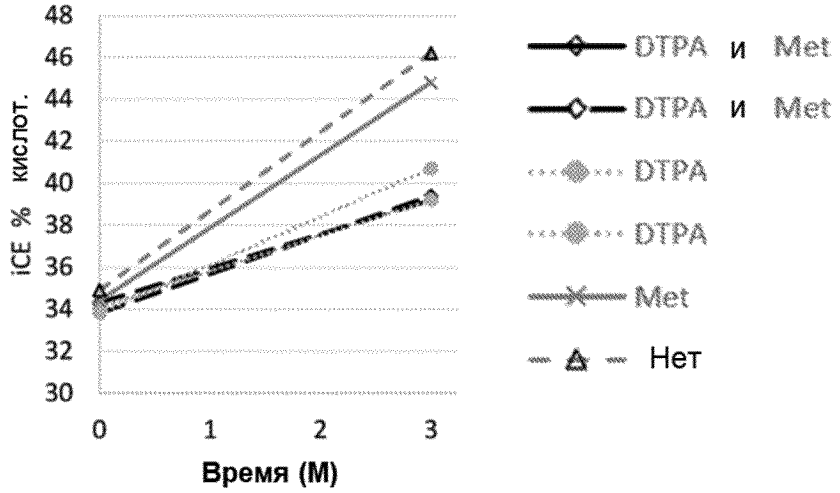
Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio
Lack Of Fit	3	0.02831342	0.009438	3.7751
Pure Error	2	0.00500000	0.002500	Prob > F
Total Error	5	0.03331342		0.2165
				Max RSq
				0.9663

Дисперсионный анализ

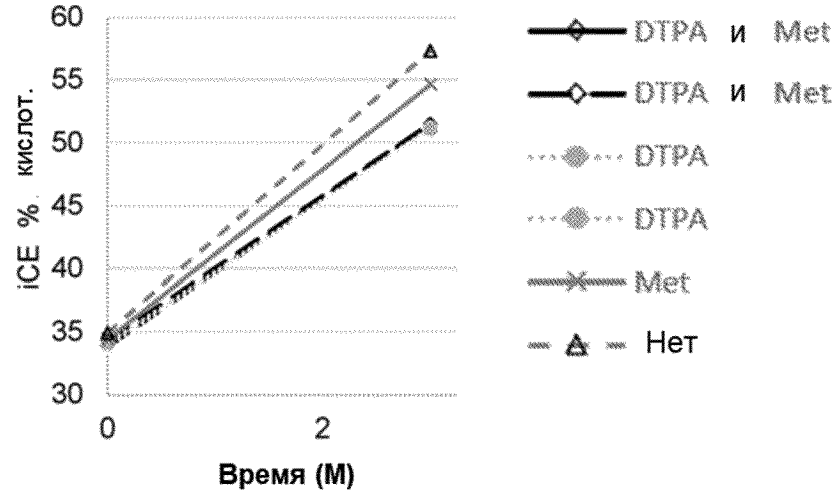
Оценки параметров

Term	Estimate	Std Error	t Ratio	Prob>|t|
Intercept	1.727068	0.041074	42.05	<.0001*
Met (mM)	-0.019256	0.00463	-4.16	0.0088*

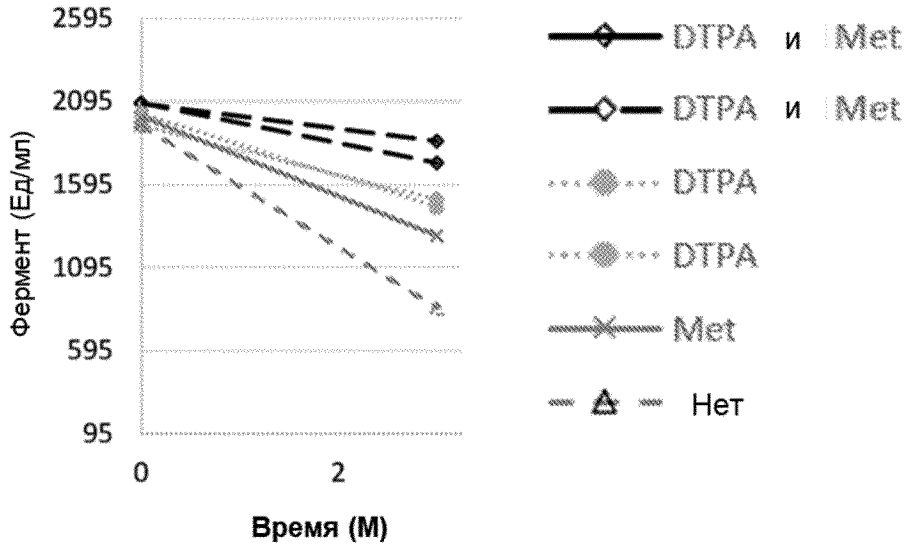
ФИГ. 22A



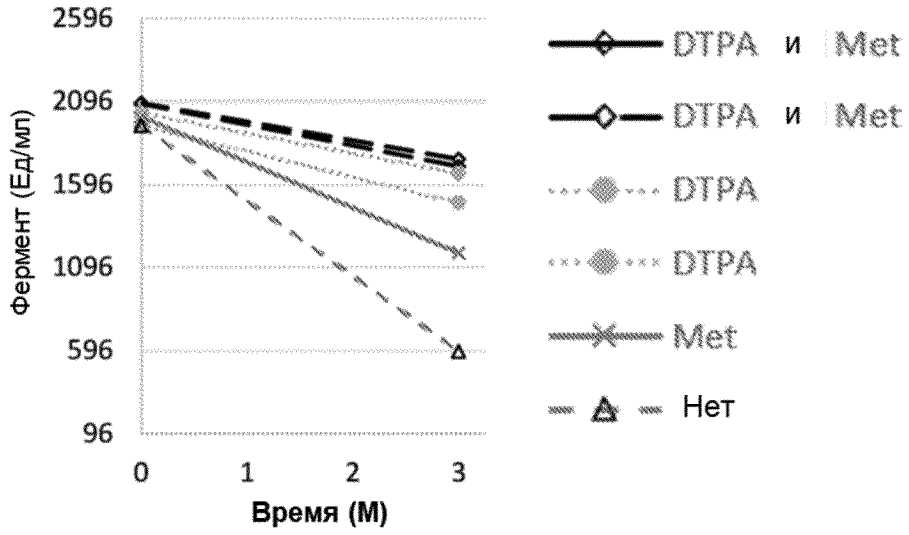
ФИГ. 22B



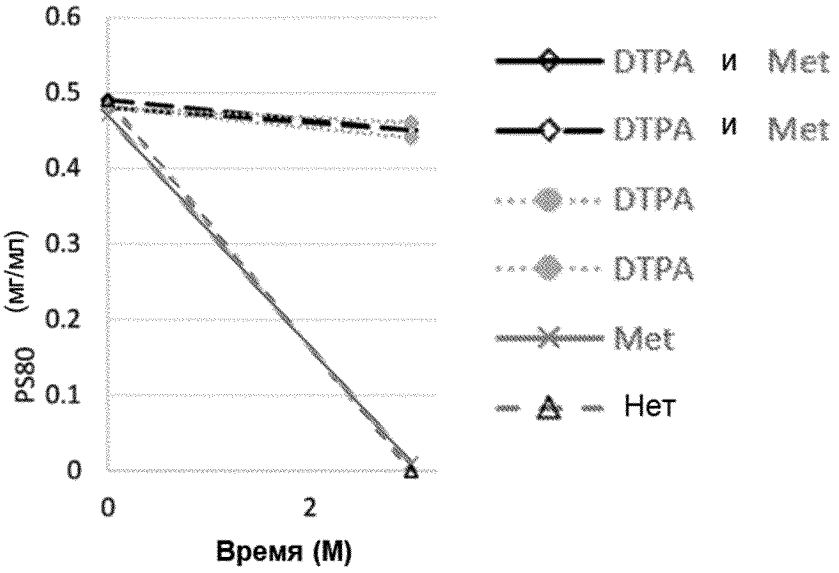
ФИГ. 23A



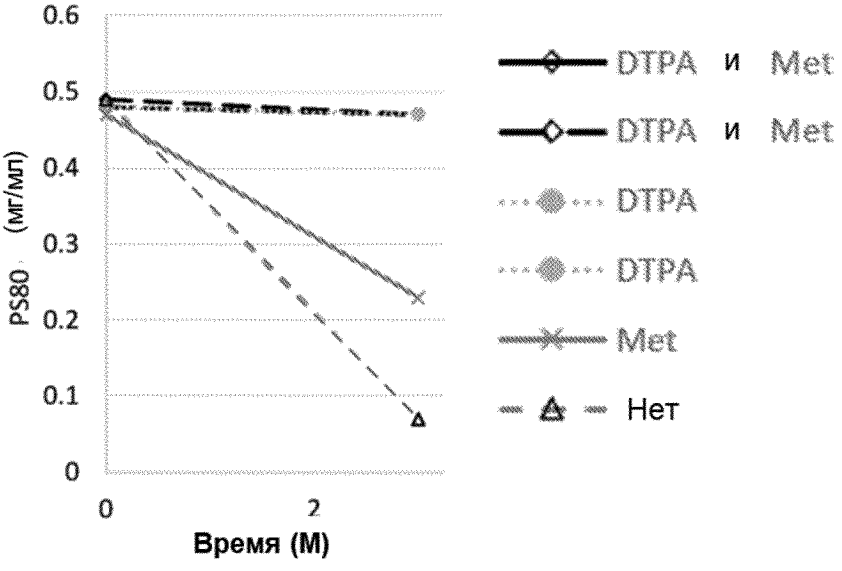
ФИГ. 23B



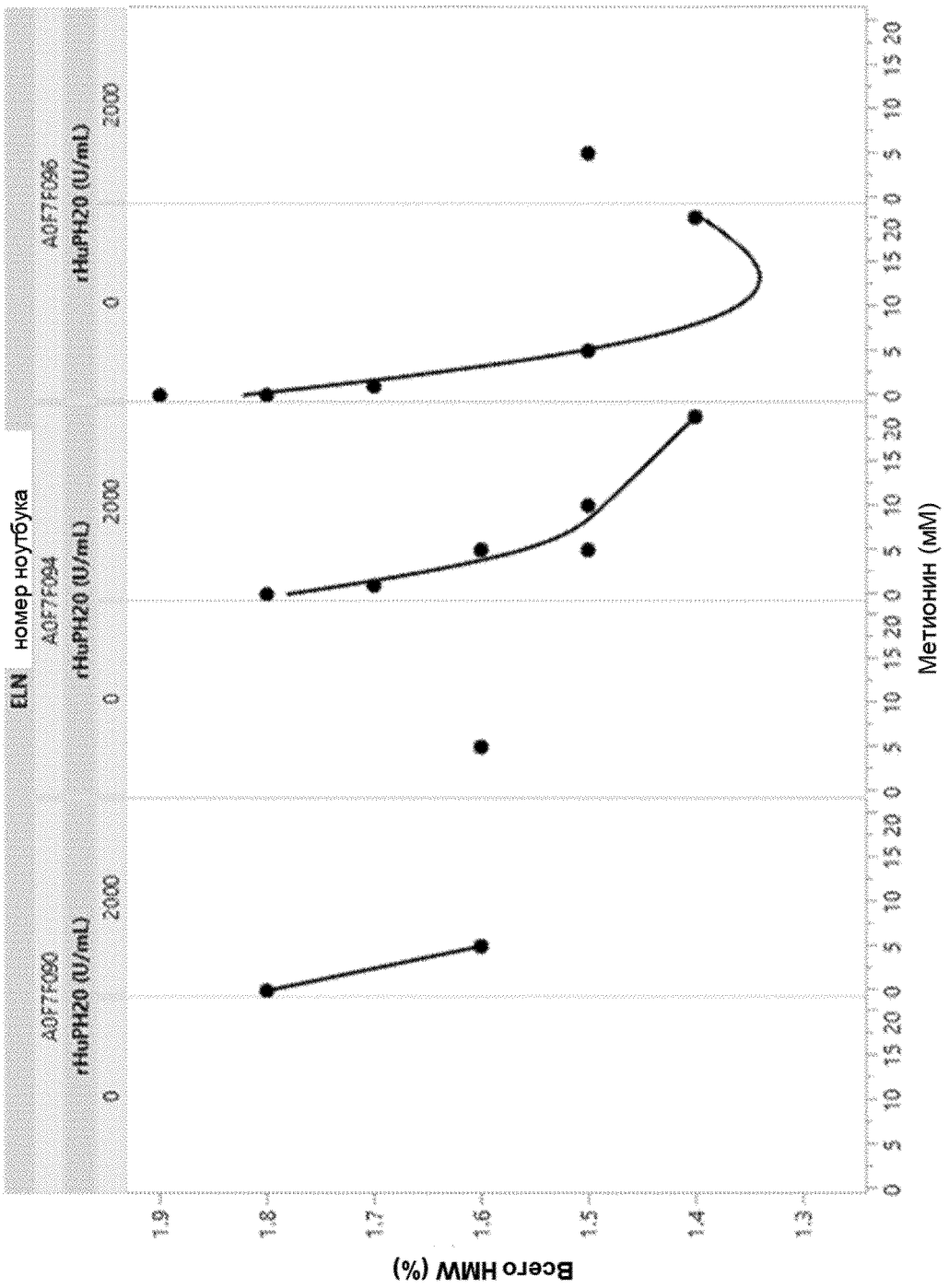
ФИГ. 24A



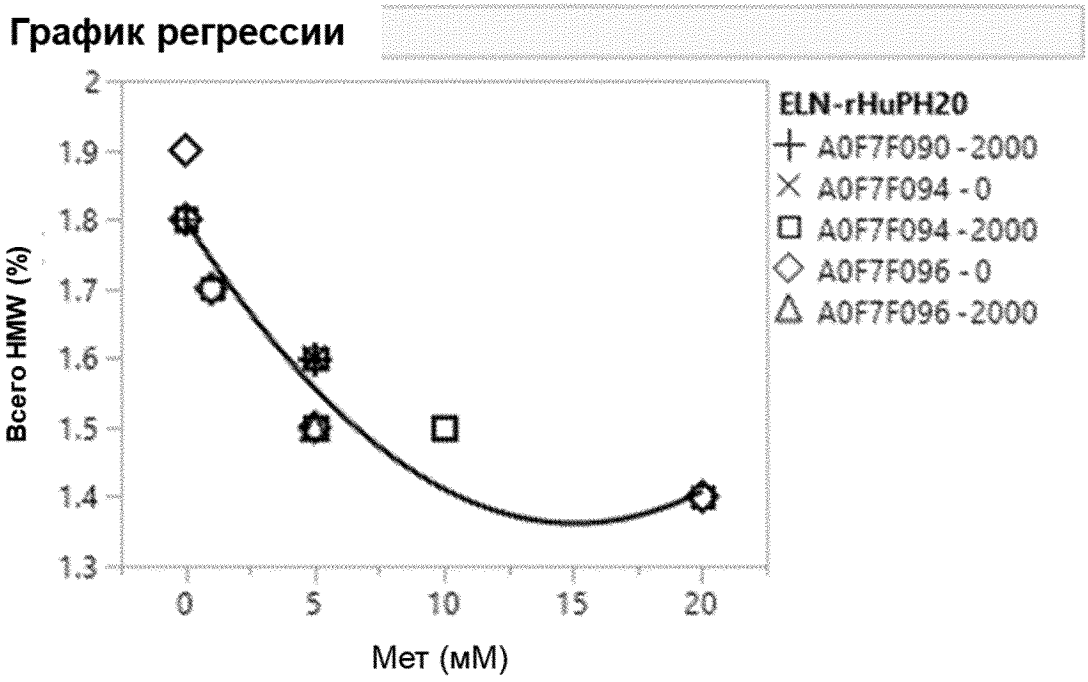
ФИГ. 24B



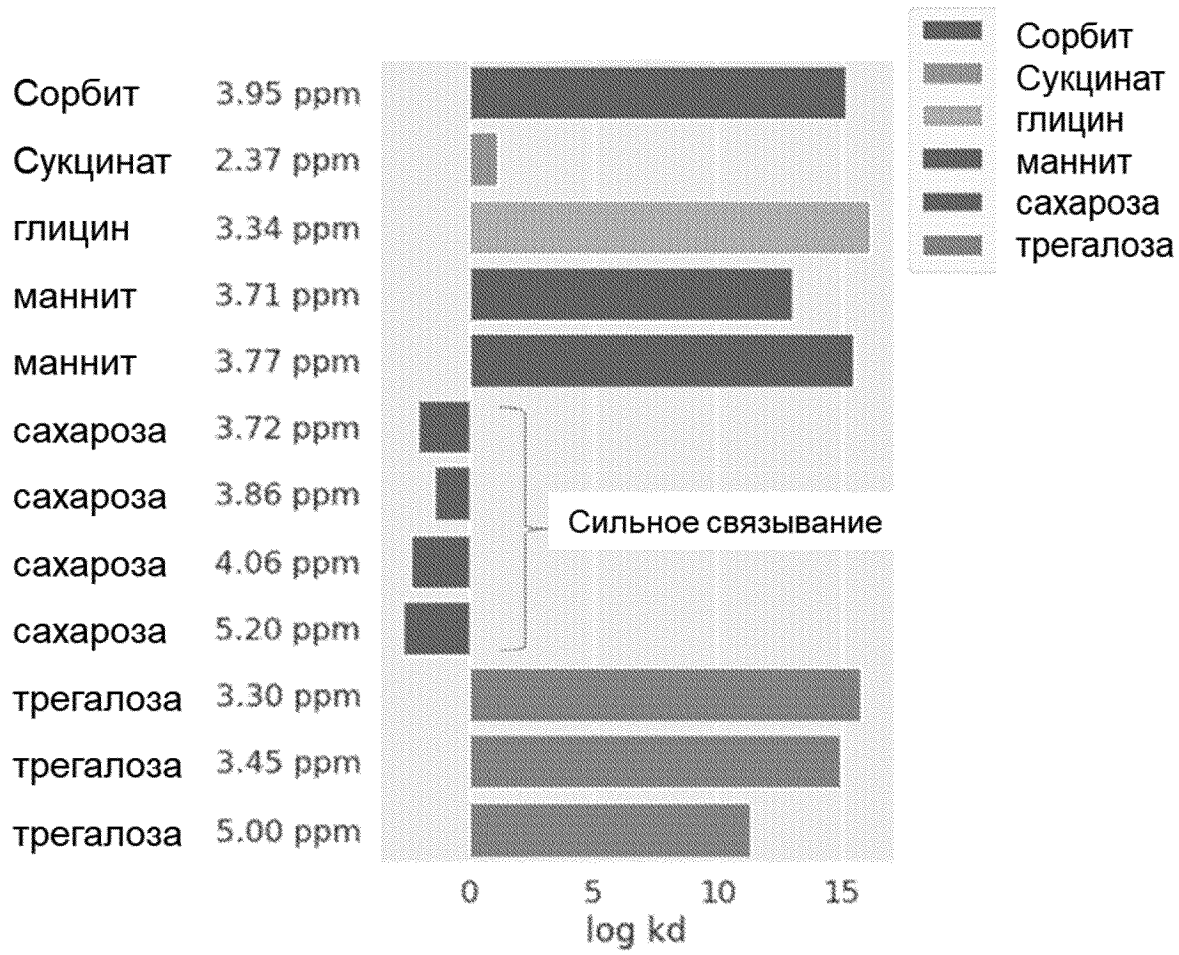
ФИГ. 25A


Всего HMW (%) vs. Метионин (мМ) через 3 месяца
ELN номер ноутбука
A0F7F090
rHuPH20 (U/mL)
A0F7F094
rHuPH20 (U/mL)
A0F7F096
rHuPH20 (U/mL)
0
2000
Всего HMW (%)
1.9
1.8
1.7
1.6
1.5
1.4
1.3
0 5 10 15 20
Метионин (мМ)

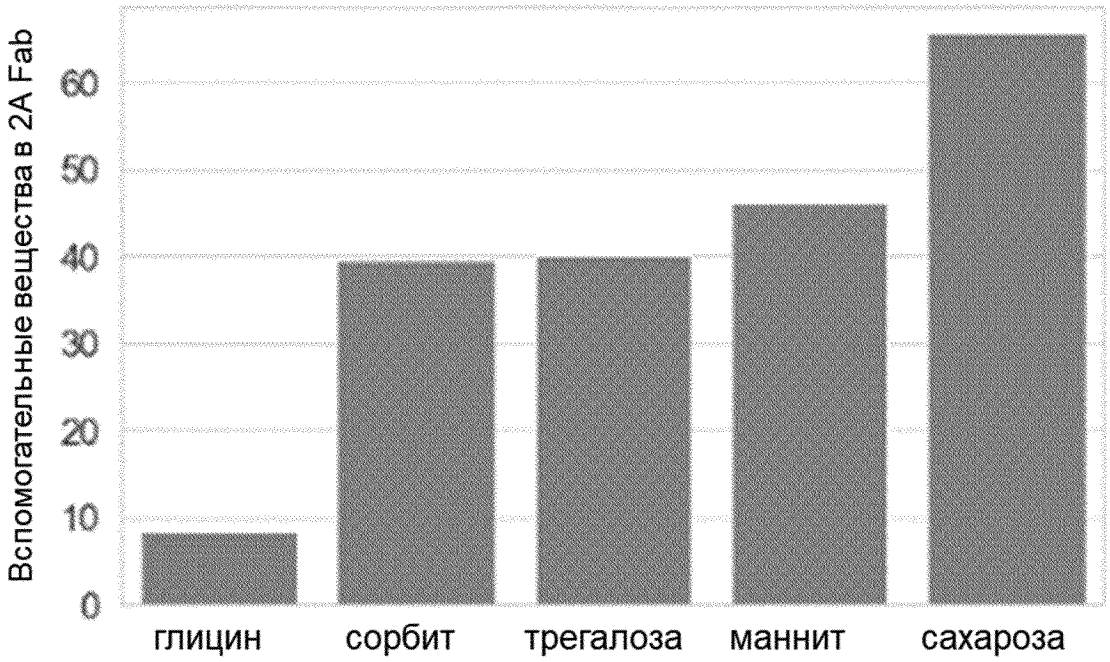
ФИГ. 25B

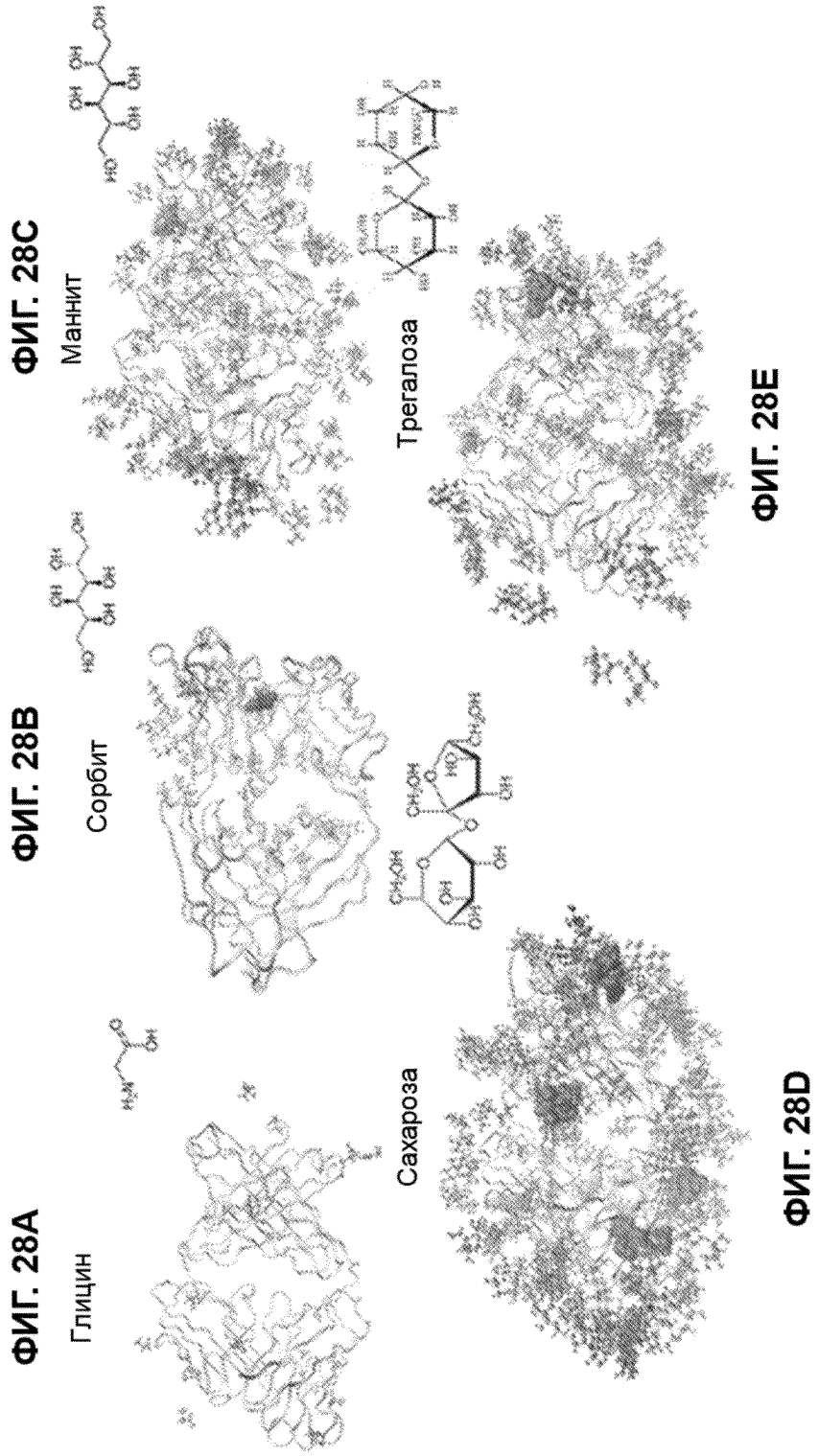

График регрессии
Всего HMW (%)
2
1.9
1.8
1.7
1.6
1.5
1.4
1.3
0
5
10
15
20
Мет (мМ)
ELN-rHuPH20
A0F7F090 - 2000
A0F7F094 - 0
A0F7F094 - 2000
A0F7F096 - 0
A0F7F096 - 2000

ФИГ. 26

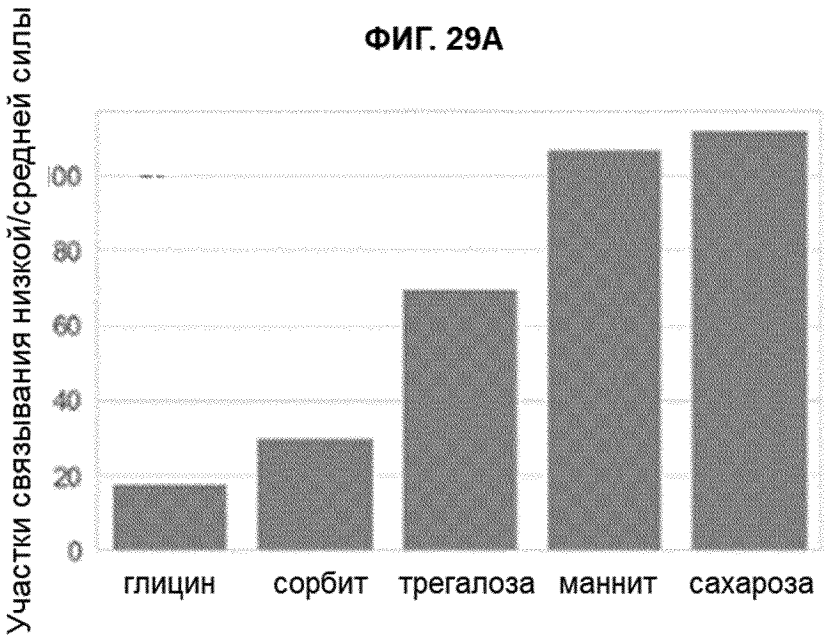

Сорбит
Сукцинат
глицин
маннит
сахароза
трегалоза
Сорбит 3.95 ppm
Сукцинат 2.37 ppm
глицин 3.34 ppm
маннит 3.71 ppm
маннит 3.77 ppm
сахароза 3.72 ppm
сахароза 3.86 ppm
сахароза 4.06 ppm
сахароза 5.20 ppm
трегалоза 3.30 ppm
трегалоза 3.45 ppm
трегалоза 5.00 ppm
Сильное связывание
0
5
10
15
log kd

ФИГ. 27


Вспомогательные вещества в 2A Fab
0
10
20
30
40
50
60
глицин
сорбит
трегалоза
маннит
сахароза


ФИГ. 28A
Глицин
ФИГ. 28B
Сорбит
ФИГ. 28C
Маннит
ФИГ. 28D
Сахароза
ФИГ. 28E
Трегалоза

ФИГ. 29A



ФИГ. 29B

