

(19)



**Евразийское  
патентное  
ведомство**

(21) **202190878** (13) **A1**

(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ**

(43) Дата публикации заявки  
**2021.07.02**

(51) Int. Cl. *A61K 9/00* (2006.01)

(22) Дата подачи заявки  
**2019.10.04**

---

(54) **СОСТАВЫ НА ОСНОВЕ АНТИТЕЛА К FGFR2**

---

(31) **62/741,772**

(72) Изобретатель:

(32) **2018.10.05**

**Прадо Исаяс, Хуан Чинь-И (US)**

(33) **US**

(74) Представитель:

(86) **PCT/US2019/054684**

**Медведев В.Н. (RU)**

(87) **WO 2020/072896 2020.04.09**

(71) Заявитель:

**ФАЙВ ПРАЙМ ТЕРАПЬЮТИКС,  
ИНК. (US)**

---

(57) Настоящее изобретение относится к составу антитела к рецептору 2 фактора роста фибробластов (FGFR2), который, в некоторых вариантах осуществления, способен храниться в виде жидкости, например в готовой к применению форме, и который, в некоторых вариантах осуществления, можно вводить внутривенно, например посредством внутривенной (в/в) инфузии.

**202190878**  
**A1**

**202190878**

**A1**

## ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

2420-567691EA/025

### СОСТАВЫ НА ОСНОВЕ АНТИТЕЛА К FGFR2

[001] Данная заявка испрашивает приоритет предварительной заявки США № 62/741772, поданной 5 октября 2018 г., включенной в настоящий документ посредством ссылки во всей своей полноте.

#### **Область техники**

[002] Настоящее раскрытие относится к составу на основе антител к FGFR2 (рецептор 2 фактора роста фибробластов), например антител к GFR2-IIIb, который в некоторых вариантах осуществления может храниться в течение длительного времени в виде жидкости, например в форме, готовой к употреблению, и который в некоторых вариантах осуществления можно вводить внутривенно, например посредством внутривенной (в/в) инфузии.

#### **Уровень техники и введение**

[003] Настоящее раскрытие относится к конкретным составам антител, которые связываются с FGFR2, например сплайс-формой FGFR2-IIIb (рецептор 2 фактора роста фибробластов IIIb). FGFR2 представляет собой один из четырех белков FGFR (FGFR1, 2, 3 и 4). FGFR отличаются множественным альтернативным сплайсингом их мРНК, что обеспечивает множество изоформ (Ornitz et al., J. Biol. Chem. 271:15292, 1996; также см. последовательности FGFR2 и его изоформы в Swiss-Prot P21802 и изоформы от P21802-1 до -20). Для FGFR2 альтернативный сплайсинг обеспечивает, например, изоформы FGFR2-IIIb и FGFR2-IIIc (или только FGFR2b и FGFR2c). Форма FGFR2-IIIb FGFR2 (также обозначаемая K-sam-II) представляет собой высокоаффинный рецептор как для членов семейства FGF1, так и KGF (FGF7, FGF10, и FGF22), тогда как FGFR2-IIIc (также обозначаемая K-sam-I) в достаточной степени связывается как с FGF1, так и FGF2, но не связывается с членами семейства KGF (Miki et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89:246, 1992). FGFR2-IIIb представляет собой единственный рецептор для членов семейства KGF (Ornitz et al., 1996, op. cit.) и, следовательно, также обозначается KGFR.

[004] Ингибиторы FGFR2 могут включать антитела. Например, в патенте США № 8101723 B2 описаны моноклональные антитела, которые связываются с человеческим FGFR2-IIIb, но в меньшей степени связываются или не связываются с FGFR2-IIIc, и наоборот. В публикации патента США № 2015-0050273 A1 описаны некоторые афукозилированные антитела, которые связываются с FGFR2-IIIb. В настоящем раскрытии описаны составы, которые можно применять для антител, описанных, например, в патенте США № 8101723 B2 и публикации патента США № 2015-0050273 A1.

[005] В настоящем документе были определены условия составления препаратов, которые в некоторых вариантах осуществления позволяют заключать антитела к FGFR2, описанные в настоящем документе, в жидких составах, позволяют им оставаться стабильными после нескольких месяцев хранения и вводить их внутривенно, например посредством в/в инфузии.

### Краткое изложение сущности изобретения

[006] Настоящее раскрытие охватывает фармацевтические составы антител к FGFR2, содержащих, например, i) 10-30 мг/мл антитела; ii) 5-40 мМ буфера, выбранного из одного или более из гистидинового, цитратного или фосфатного; iii) 130-170 мМ аргинина или 250-290 мМ сахарозы; и iv) 0,002%-0,1% полисорбата 20 или полисорбата 80; причем состав имеет pH 5,0-6,5, и причем антитело к FGFR2 выбрано из следующего: а) антитело, содержащее тяжелую цепь, содержащую последовательность SEQ ID NO: 2, и легкую цепь, содержащую последовательность SEQ ID NO: 3; б) антитело, содержащее тяжелую цепь, содержащую гипервариабельную область 1 (HVR1) тяжелой цепи (HC), содержащую последовательность SEQ ID NO: 6, HVR2 HC, содержащую последовательность SEQ ID NO: 7, и HVR3 HC, содержащую последовательность SEQ ID NO: 8, и легкую цепь, содержащую HVR1 легкой цепи (LC), содержащую последовательность SEQ ID NO: 9, HVR2 LC, содержащую последовательность SEQ ID NO: 10, и HVR3 LC, содержащую последовательность SEQ ID NO: 11; и с) антитело, содержащее тяжелую цепь, содержащую последовательность вариабельной области, содержащую последовательность SEQ ID NO: 4, и легкую цепь, содержащую последовательность вариабельной области легкой цепи, содержащую последовательность SEQ ID NO: 5. В некоторых вариантах осуществления состав характеризуется одним или более из следующих свойств: (а) готовый к применению жидкий состав; (б) не лиофилизирован перед введением пациенту; (с) содержится внутри одноразового флакона; (d) агрегация белка в составе повышается не более чем на 2,0% через 6 месяцев хранения при 5 °С; (е) агрегация белка в составе повышается не более чем на 2,0% или 2,5% через 3 месяца хранения при 25 °С; (f) агрегация белка в составе повышается не более чем на 7,0% через 3 месяца хранения при 40 °С; (g) отличающиеся зарядом варианты белка в составе не изменяются более чем на 5% через 6 месяцев хранения при 5 °С; (h) агрегация белка в составе повышается не более чем на 2,0% после 5 циклов замораживания и оттаивания при -70 °С; (i) агрегация белка в составе повышается не более чем на 2,0% через 72 часа механического воздействия при 500 об/мин; (j) разведен солевым раствором перед внутривенным введением; (к) вводится внутривенно (например, посредством внутривенной инфузии); и (l) изотоничен плазме человека.

[007] В некоторых случаях указанные выше составы содержат 10-15 мг/мл, 15-20 мг/мл, 20-25 мг/мл, 18-22 мг/мл, 10 мг/мл, 11 мг/мл, 12 мг/мл, 13 мг/мл, 14 мг/мл, 15 мг/мл, 16 мг/мл, 17 мг/мл, 18 мг/мл, 19 мг/мл, 20 мг/мл, 21 мг/мл, 22 мг/мл, 23 мг/мл, 24 мг/мл, или 25 мг/мл антитела к FGFR2. В некоторых случаях составы содержат 10-40 мМ, 10-30 мМ, 15-25 мМ, 10-20 мМ, 20-30 мМ, 18-22 мМ, 10 мМ, 15 мМ, 16 мМ, 17 мМ, 18 мМ, 19 мМ, 20 мМ, 21 мМ, 22 мМ, 23 мМ, 24 мМ, 25 мМ, 26 мМ, 27 мМ, 28 мМ, 29 мМ или 30 мМ буфера. В некоторых вариантах осуществления буфер представляет собой гистидиновый буфер. В некоторых вариантах осуществления состав содержит 130-150 мМ, 150-170 мМ, 140-160 мМ, 130 мМ, 135 мМ, 140 мМ, 145 мМ, 150 мМ, 155 мМ, 160 мМ, 165 мМ или 170 мМ аргинина. В некоторых случаях состав, содержащий аргинин, не

содержит сахарозу. В некоторых вариантах осуществления рН состава, содержащего аргинин, составляет 5,0-7,0, 5,0-6,0, 5,5-6,0, 5,5-6,5, 5,5-5,9, 5,6-5,8, 5,0, 5,1, 5,2, 5,3, 5,4, 5,5, 5,6, 5,7, 5,8, 5,9, 6,0, 6,1, 6,2, 6,3, 6,4 или 6,5. В некоторых случаях рН состава составляет 5,5-5,9, 5,6-5,8, 5,6, 5,7, 5,8, 5,9 или 6,0. В некоторых вариантах осуществления состав содержит 260-280 мМ, 250 мМ, 260 мМ, 270 мМ, 280 мМ, 290 мМ сахарозы. В некоторых таких случаях состав, содержащий сахарозу, не содержит аргинин. В некоторых вариантах осуществления рН состава, содержащего сахарозу, составляет 5,0-7,0, 5,0-6,0, 5,5-6,0, 5,5-5,9, 5,6-5,8, 5,0, 5,1, 5,2, 5,3, 5,4, 5,5, 5,6, 5,7, 5,8, 5,9, 6,0, 6,1, 6,2, 6,3, 6,4 или 6,5. В некоторых вариантах осуществления рН состава составляет 5,8-6,2, 5,9-6,1, 5,9, 6,0 или 6,1.

[008] Любой из указанных выше составов также может содержать 0,01-0,1%, 0,005-0,05%, 0,002%, 0,003%, 0,004%, 0,005%, 0,006%, 0,007%, 0,008%, 0,009%, 0,01%, 0,02%, 0,03%, 0,04%, 0,05%, 0,06%, 0,07%, 0,08%, 0,09% или 0,1% полисорбата 20 или 80. В некоторых случаях составы содержат 0,01-0,1%, 0,005-0,05%, 0,002%, 0,003%, 0,004%, 0,005%, 0,006%, 0,007%, 0,008%, 0,009%, 0,01%, 0,02%, 0,03%, 0,04%, 0,05%, 0,06%, 0,07%, 0,08%, 0,09% или 0,1% полисорбата 20.

[009] В некоторых вариантах осуществления составы по существу состоят из антитела к FGFR2; цитратного, фосфатного или гистидинового буфера; аргинина или сахарозы; и полисорбата 20 или 80. В некоторых таких случаях составы по существу состоят из антитела к FGFR2, гистидина, аргинина или сахарозы, и полисорбата 20.

[010] Настоящее раскрытие также включает, например, фармацевтический состав антитела к FGFR2, причем состав представляет собой жидкий состав, который не был лиофилизирован перед применением, и который содержит следующее: i) 10-25 мг/мл антитела к FGFR2; ii) 10-30 мМ гистидинового буфера; iii) 140-160 мМ аргинина; и iv) 0,005%-0,05% полисорбата 20; причем состав имеет рН 5,6-5,8. Настоящее раскрытие также включает, например, фармацевтический состав антитела к FGFR2, причем состав представляет собой жидкий состав, который не был лиофилизирован перед применением, и который содержит следующее: i) 10-25 мг/мл антитела к FGFR2; ii) 20 мМ гистидинового буфера; iii) 150 мМ аргинина; и iv) 0,01% полисорбата 20; причем состав имеет рН 5,7. Варианты осуществления, представленные в данном документе, также включают фармацевтические составы на основе антитела к рецептору 2 фактора роста фибробластов (FGFR2), содержащие следующее: i) 20 мг/мл антитела к FGFR2; ii) 20 мМ L-гистидина; iii) 150 мМ L-аргинина; iv) 0,01% полисорбата 20, причем фармацевтический состав имеет рН 5,7 и представляет собой жидкий состав, который не был лиофилизирован перед применением. В любом таком случае в некоторых вариантах осуществления состав по существу состоит из антитела к FGFR2, гистидина, аргинина и полисорбата 20. В некоторых таких вариантах осуществления антитело к FGFR2 может быть выбрано из следующего: а) антитело, содержащее тяжелую цепь, содержащую последовательность SEQ ID NO: 2 и легкую цепь, содержащую последовательность SEQ ID NO: 3; б) антитело, содержащее тяжелую цепь, содержащую гипервариабельную

область 1 (HVR1) тяжелой цепи (HC), содержащую последовательность SEQ ID NO: 6, HVR2 HC, содержащую последовательность SEQ ID NO: 7, и HVR3 HC, содержащую последовательность SEQ ID NO: 8, и легкую цепь, содержащую HVR1 легкой цепи (LC), содержащую SEQ ID NO: 9, HVR2 LC, содержащую последовательность SEQ ID NO: 10, и HVR3 LC, содержащую последовательность SEQ ID NO: 11; и с) антитело, содержащее тяжелую цепь, содержащую последовательность вариабельной области, содержащую последовательность SEQ ID NO: 4 и легкую цепь, содержащую последовательность вариабельной области легкой цепи, содержащую последовательность SEQ ID NO: 5. Фармацевтические составы, описанные выше, могут иметь одно или более из следующих свойств: (a) содержатся внутри одноразового флакона; (b) агрегация белка в составе повышается не более чем на 2,0% через 6 месяцев хранения при 5 °C; (c) агрегация белка в составе повышается не более чем на 2,0% или 2,5% через 3 месяца хранения при 25 °C; (d) агрегация белка в составе повышается не более чем на 7,0% через 3 месяца хранения при 40 °C; (e) отличающиеся зарядом варианты белка в составе не изменяются более чем на 5% через 6 месяцев хранения при 5 °C; (f) агрегация белка в составе повышается не более чем на 2,0% после 5 циклов замораживания и оттаивания при -70 °C; (g) агрегация белка в составе повышается не более чем на 2,0% через 72 часа механического воздействия при 500 об/мин; (h) разведены в солевом растворе перед внутривенным введением; (i) вводятся внутривенно (например, посредством в/в инфузии); и (j) изотоничен плазме человека. Приведенный выше фармацевтический состав, который содержит 10-25 мг/мл антитела, более конкретно, содержит 10-15 мг/мл, 15-20 мг/мл, 20-25 мг/мл, 18-22 мг/мл, 10 мг/мл, 11 мг/мл, 12 мг/мл, 13 мг/мл, 14 мг/мл, 15 мг/мл, 16 мг/мл, 17 мг/мл, 18 мг/мл, 19 мг/мл, 20 мг/мл, 21 мг/мл, 22 мг/мл, 23 мг/мл, 24 мг/мл или 25 мг/мл антитела к FGFR2.

[011] Настоящее раскрытие также включает, например, фармацевтический состав антитела к FGFR2, причем состав представляет собой жидкий состав, который не был лиофилизирован перед применением, и который содержит следующее: i) 10-25 мг/мл антитела к FGFR2; ii) 10-30 мМ гистидинового буфера; iii) 260-280 мМ сахарозы; и iv) 0,005%-0,05% полисорбата 20; причем состав имеет pH 5,8-6,2. Настоящее раскрытие также включает, например, фармацевтический состав антитела к FGFR2, причем состав представляет собой жидкий состав, который не был лиофилизирован перед применением, и который содержит следующее: i) 10-25 мг/мл антитела к FGFR2; ii) 20 мМ гистидинового буфера; iii) 270 мМ сахарозы; и iv) 0,01% полисорбата 20; причем состав имеет pH 6,0. В следующих вариантах осуществления фармацевтический состав может содержать следующее: i) 20 мг/мл антитела к FGFR2; ii) 20 мМ L-гистидина; iii) 270 мМ сахарозы; и iv) 0,01% полисорбата 20, причем состав имеет pH 6,0 и представляет собой жидкий состав, который не был лиофилизирован перед применением. В некоторых таких вариантах осуществления состав по существу состоит из антитела к FGFR2, гистидина, сахарозы и полисорбата 20. В некоторых таких вариантах осуществления антитело к FGFR2 может быть выбрано из следующего: а) антитело, содержащее тяжелую цепь, содержащую последовательность SEQ ID NO: 2 и легкую цепь, содержащую

последовательность SEQ ID NO: 3; b) антитело, содержащее тяжелую цепь, содержащую гипервариабельную область 1 (HVR1) тяжелой цепи (HC), содержащую последовательность SEQ ID NO: 6, HVR2 HC, содержащую последовательность SEQ ID NO: 7, и HVR3 HC, содержащую последовательность SEQ ID NO: 8, и легкую цепь, содержащую HVR1 легкой цепи (LC), содержащую SEQ ID NO: 9, HVR2 LC, содержащую последовательность SEQ ID NO: 10, и HVR3 LC, содержащую последовательность SEQ ID NO: 11; и c) антитело, содержащее тяжелую цепь, содержащую последовательность вариабельной области, содержащую последовательность SEQ ID NO: 4 и легкую цепь, содержащую последовательность вариабельной области легкой цепи, содержащую последовательность SEQ ID NO: 5. Фармацевтические составы, описанные выше, могут иметь одно или более из следующих свойств: (a) содержатся внутри одноразового флакона; (b) агрегация белка в составе повышается не более чем на 2,0% через 6 месяцев хранения при 5 °C; (c) агрегация белка в составе повышается не более чем на 2,0% или 2,5% через 3 месяца хранения при 25 °C; (d) агрегация белка в составе повышается не более чем на 7,0% через 3 месяца хранения при 40 °C; (e) отличающиеся зарядом варианты белка в составе не изменяются более чем на 5% через 6 месяцев хранения при 5 °C; (f) агрегация белка в составе повышается не более чем на 2,0% после 5 циклов замораживания и оттаивания при -70 °C; (g) агрегация белка в составе повышается не более чем на 2,0% через 72 часа механического воздействия при 500 об/мин; (h) разведены в солевом растворе перед внутривенным введением; (i) вводятся внутривенно (например, посредством в/в инфузии); и (j) изотоничен плазме человека. Приведенный выше фармацевтический состав, который содержит 10-25 мг/мл антитела, более конкретно, содержит 10-15 мг/мл, 15-20 мг/мл, 20-25 мг/мл, 18-22 мг/мл, 10 мг/мл, 11 мг/мл, 12 мг/мл, 13 мг/мл, 14 мг/мл, 15 мг/мл, 16 мг/мл, 17 мг/мл, 18 мг/мл, 19 мг/мл, 20 мг/мл, 21 мг/мл, 22 мг/мл, 23 мг/мл, 24 мг/мл или 25 мг/мл антитела к FGFR2.

[012] В некоторых вариантах осуществления настоящего раскрытия фармацевтический состав может не содержать одно или более из следующего: сахара, отличные от сахарозы, сахарные спирты, виды белка, отличные от антитела к FGFR2, поверхностно-активные вещества, отличные от полисорбата 20 или полисорбата 80, аминокислоты, отличные от аргинина и гистидина,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$  и  $\text{Mn}^{2+}$ . В любом варианте осуществления настоящего раскрытия состав может содержаться внутри одноразовых флаконов.

[013] Настоящее раскрытие также охватывает способы лечения солидной опухоли у пациентов, нуждающихся в этом, включающие введение пациенту эффективного количества фармацевтического состава по настоящему раскрытию. В некоторых вариантах осуществления состав вводят пациенту внутривенно (например, посредством внутривенной инфузии).

[014] В любом из составов по настоящему раскрытию антитело к FGFR2 может быть необязательно афукозилировано. В любом из составов по настоящему раскрытию антитело к FGFR2 может представлять собой полноразмерное антитело, или может

представлять собой антигенсвязывающий фрагмент, например Fv, одноцепочечный Fv (scFv), Fab, Fab' или (Fab')<sub>2</sub>. В любом из составов по настоящему раскрытию антитело может быть химерным, гуманизированным или человеческим. В любом из составов по настоящему раскрытию антитело может быть биспецифическим, мультиспецифическим или конъюгированным.

#### **Краткое описание фигур**

[015] **На фигуре (ФИГ.) 1** показано среднее связывание афукозилированного антитела к FGFR2Шб-FGFR2Шб или к белку А в анализе Вiasoge® после инкубации антитела в различных процентных концентрациях пероксида водорода (0,01%, 0,1% и 1,0%, а также 0% (контроль)). Инкубация антитела к FGFR2Шб с пероксидом водорода не препятствовала связыванию с FGFR2Шб, не смотря на то, что она в некоторой степени препятствовала связыванию белка А.

[016] **На ФИГ. 2** показаны термограммы дифференциальной сканирующей калориметрии (DSC) составов антитела к FGFR2Шб на основе цитрата/NaCl при pH 4,0, 5,0 и 6,0. Данные демонстрируют, что температура разворачивания составов повышается при pH в данном диапазоне.

[017] **На ФИГ. 3** показаны хроматограммы эксклюзионной высокоэффективной жидкостной хроматографии SE-HPLC образцов антитела к FGFR2Шб для скрининга при pH 4, 5, 6, 7 и 8, как описано ниже в примере 5.

[018] **На ФИГ. 4** показано воздействие pH буфера (в цитратном или фосфатном буфере NaCl) на образование агрегатов, что определено посредством SE-HPLC в диапазоне pH 4-8 и в течение периода хранения 0-2 месяцев при 40 °С. На фигуре показано значительное % повышение агрегатов при pH 4 по сравнению с другими значениями pH.

[019] **На ФИГ. 5** показано воздействие pH буфера (в цитратном или фосфатном буфере NaCl) на образование белка c1p (фрагмента), что определено посредством SE-HPLC в диапазоне pH 4-8 и в течение периода хранения 0-2 месяцев при 40 °С. На фигуре показано значительное % повышение образования белка c1p при pH 4 по сравнению с другими pH.

[020] **На ФИГ. 6** показано воздействие pH буфера (в цитратном или фосфатном буфере NaCl) на образование агрегатов, что определено посредством SE-HPLC в диапазоне pH 4-8 и в течение периода хранения 0-2 месяцев при 25 °С. На фигуре показано, что все составы в целом содержали менее 3,0% агрегатов в течение данного периода, за исключением состава с pH 8, в которых содержание агрегатов повышалось от около 2,5% до около 4% в течение двух месяцев хранения.

[021] **На ФИГ. 7** показано воздействие pH буфера (в цитратном или фосфатном буфере NaCl) на образование белка c1p (фрагмента), что определено посредством SE-HPLC в диапазоне pH 4-8 и в течение периода хранения 0-2 месяцев при 25 °С. На фигуре показано повышение содержания белков c1p до около 1,5% при pH 4 по сравнению с другими значениями pH, при которых содержание белков c1p оставалось менее 0,5%.

[022] **На ФИГ. 8** показано иллюстративная слабая катионообменная хроматограмма (WCX)-HPLC состава на основе антител к FGFR2ШЬ для оценки профиля отличающихся зарядом вариантов.

[023] **На ФИГ. 9** показано воздействие pH буфера (в цитратном или фосфатном буфере NaCl) на образование кислотного варианта, что определено посредством WCX-HPLC в диапазоне pH 4-8 и в течение периода хранения 0-2 месяца при 25 °С. Наблюдалось относительно высокое % повышение кислотных вариантов в составе с pH 8, при этом состав с pH 7 демонстрирует следующее наибольшее % повышение.

[024] **На ФИГ. 10** показано воздействие pH буфера (в цитратном или фосфатном буфере NaCl) на образование основного варианта, что определено посредством WCX-HPLC в диапазоне pH 4-8 и в течение периода хранения 0-2 месяца при 25 °С. Наблюдалось относительно высокое % снижение основных вариантов в составе с pH 8, при этом состав с pH 7 демонстрирует следующее наибольшее % повышение. Наименьшее % изменение наблюдалось при pH 4.

[025] **На ФИГ. 11** показано воздействие pH буфера (в цитратном или фосфатном буфере NaCl) на размер главного пика в хроматограмме WCX-HPLC в диапазоне pH 4-8 и в течение периода хранения 0-2 месяца при 25 °С. Наибольшие % изменения главного пика наблюдали в составах с pH 4 и pH 8 и наименьшие % изменения в составах с pH 5, pH 6 и pH 7.

[026] **На ФИГ. 12** показан внешний вид растворов семи составов на основе антител к FGFR2ШЬ, показанных ниже в таблице 8, после встряхивания при 500 об/мин в течение 72 часов.

[027] **На ФИГ. 13** показано воздействие вспомогательных веществ на стабильность состава на основе антител к FGFR2ШЬ после 5 циклов замораживания и оттаивания при температуре от 70 °С до температуры окружающей среды. Составы представлены в таблице 8. Только композиция с гистидином/NaCl (№ 4 в таблице 8), по-видимому, показывала повышение содержания агрегатов при многократных циклах замораживания и оттаивания.

[028] **На ФИГ. 14** показано воздействие буфера и структурообразующего средства на образование агрегатов в составах на основе антител к FGFR2ШЬ в течение 1 месяца при 40 °С, определенное посредством SE-HPLC.

[029] **На ФИГ. 15** показано воздействие буфера и структурообразующего средства на образование агрегатов в составах на основе антител к FGFR2ШЬ в течение 3 месяцев при 40 °С, определенное посредством SE-HPLC.

[030] **На ФИГ. 16** показано воздействие буфера и структурообразующего средства на образование кислотных вариантов в составах на основе антител к FGFR2ШЬ в течение 3 месяцев при 25 °С, определенное посредством WCX-HPLC.

[031] **На ФИГ. 17** показано воздействие буфера и структурообразующего средства на размер главного пика WCX-HPLC в течение 3 месяцев при 25 °С.

[032] **На ФИГ. 18** показано воздействие буфера и структурообразующего средства



на размер главного пика WCX-HPLC в течение 3 месяцев при 25 °С.

[033] На **ФИГ. 19** показано воздействие механического воздействия в течение 72 часов на составы на основе антитела к FGFR2Шб, содержащие гистидин/аргинин или гистидин/сахарозу, при pH 5,5-6,5, определенное анализом агрегатов посредством SE-HPLC.

[034] На **ФИГ. 20** показано воздействие механического воздействия в течение 72 часов на составы на основе антитела к FGFR2Шб, содержащие гистидин/аргинин или гистидин/сахарозу, при pH 5,5-6,5, определенное анализом белков c1p (фрагментов) посредством SE-HPLC.

[035] На **ФИГ. 21** показано воздействие 5 циклов замораживания и оттаивания при температуре от -70 °С до температуры окружающей среды на составы на основе антитела к FGFR2Шб, содержащие гистидин/аргинин или гистидин/сахарозу, при pH 5,5-6,5, определенное анализом агрегатов посредством SE-HPLC.

[036] На **ФИГ. 22** показано воздействие 5 циклов замораживания и оттаивания при температуре от -70 °С до температуры окружающей среды на составы на основе антитела к FGFR2Шб, содержащие гистидин/аргинин или гистидин/сахарозу, при pH 5,5-6,5, определенное анализом белков c1p (фрагментов) посредством SE-HPLC.

[037] На **ФИГ. 23А-С** показано влияние pH от 5,5 до 6,5 на образование агрегатов в составе на основе гистидина/аргинина, содержащем 20 мМ гистидина, 150 мМ аргинина и 0,01% полисорбата 20. На **ФИГ. 23А** показано образование агрегатов, указывающее на то, что при pH 5,5-6,0 через 1 месяц при 40 °С, % агрегатов в целом оставался ниже 3%. На **ФИГ. 23В** показано образование агрегатов, указывающее на то, что при pH 5,5-6,0 через 3 месяца при 25 °С % агрегатов в целом оставался ниже 2,5%. На **ФИГ. 23С** показано образование агрегатов, указывающее на то, что при всех значениях pH через 6 месяцев при 5 °С % агрегатов в целом сохранял значение около 1,5% и менее 2%.

[038] На **ФИГ. 24А-С** показано влияние pH от 5,5 до 6,5 на белки c1p (фрагментов) в составе на основе гистидина/аргинина, содержащем 20 мМ гистидина, 150 мМ аргинина и 0,01% полисорбата 20. На **ФИГ. 24А** показано образование белков c1p (фрагментов), указывающее на то, что при всех значениях pH через 1 месяц при 40 °С % белков c1p в целом сохранял значение около 1% или менее 1% при pH 6. На **ФИГ. 24В** показано образование белков c1p, указывающее на то, что при всех значениях pH, через 3 месяца при 25 °С % белков c1p в целом сохранял значение ниже 1,5%. На **ФИГ. 24С** показано образование белков c1p, указывающее на то, что при всех значениях pH через 6 месяцев при 5 °С % белков c1p в целом сохранял значение менее 1%, при этом % белков c1p в составах при pH 5,7 или 6,0 в целом сохранял значение ниже 0,5%.

[039] На **ФИГ. 25А-С** показано влияние pH от 5,5 до 6,5 на образование агрегатов в составах на основе гистидина/сахарозы, содержащих 20 мМ гистидина, 270 мМ сахарозы и 0,01% полисорбата 20. На **ФИГ. 25А** показано образование агрегатов, указывающее на то, что при pH 5,5-6,0 через 1 месяц при 40 °С % агрегатов в целом сохраняет значение ниже 4%, и ниже 3% при pH 6,0 и 6,3, и около 2,5% при pH 5,5 и 5,7.

На **ФИГ. 25В** показано образование агрегатов, указывающее на то, что при рН 5,5-5,7 через 3 месяца при 25 °С % агрегатов в целом сохраняет значение ниже 2,0% и что при рН 6,0% агрегатов остается ниже 2,5%. На **ФИГ. 25С** показано образование агрегатов, указывающее на то, что при всех значениях рН через 6 месяцев при 5 °С % агрегатов в целом сохраняет значение около 1,5% и менее 2%.

[040] На **ФИГ. 26А-С** показано влияние рН от 5,5 до 6,5 на белки сIIP (фрагментов) в составе на основе гистидина/сахарозы, содержащем 20 мМ гистидина, 270 мМ сахарозы и 0,01% полисорбата 20. На **ФИГ. 26А** показано образование белков сIIP (фрагментов), указывающее на то, что при всех значениях рН через 1 месяц при 40 °С % белков сIIP в целом сохраняли значение менее 2% или менее 1,5% при рН 5,5-6,3. На **ФИГ. 26В** показано образование белков сIIP, указывающее на то, что при всех значениях рН через 3 месяца при 25 °С % белков сIIP в целом сохранял значение ниже 3,5%, но также что образование белков сIIP зависит от рН при наименьшем процентном содержании в течение 1, 2 и 3 месяцев для раствора с рН 5,5 и наибольшем процентном содержании в каждый месяц для состава с рН 6,3. На **ФИГ. 26С** показано образование белков сIIP, указывающее на то, что при значениях рН 6,0 или ниже через 6 месяцев при 5 °С % белков сIIP в целом сохраняет значение менее 1%.

[041] На **ФИГ. 27А-С** показано влияние рН от 5,5 до 6,5 на образование кислотного варианта в составе на основе гистидина/сахарозы, содержащем 20 мМ гистидина, 270 мМ сахарозы и 0,01% полисорбата 20. На **ФИГ. 27А** показано образование кислотного варианта, указывающее на то, что при рН 5,5-6,0 через 1 месяц при 40 °С % кислотных вариантов в целом сохранял значение ниже 40%. На **ФИГ. 27В** показано образование кислотного варианта, указывающее на то, что при рН 5,5-6,0 через 3 месяца при 25 °С % кислотных вариантов в целом сохранял значение ниже 30,0%. На **ФИГ. 27С** показано образование кислотного варианта, указывающее на то, что при всех значениях рН через 6 месяцев при 5 °С % кислотных вариантов в целом сохранял значение ниже 25%.

[042] На **ФИГ. 28А-С** показано влияние рН от 5,5 до 6,5 на образование кислотного варианта в составе на основе гистидина/аргинина, содержащем 20 мМ гистидина, 150 мМ аргинина и 0,01% полисорбата 20. На **ФИГ. 28А** показано образование кислотного варианта, указывающее на то, что при рН 5,5-6,0 через 1 месяц при 40 °С % кислотных вариантов в целом сохранял значение ниже 40%. На **ФИГ. 28В** показано образование кислотного варианта, указывающее на то, что при рН 5,5-6,0 через 3 месяца при 25 °С % кислотных вариантов в целом сохранял значение ниже 30,0%. На **ФИГ. 28С** показано образование кислотного варианта, указывающее на то, что при всех значениях рН через 6 месяцев при 5 °С % кислотных вариантов в целом сохранял значение ниже 25%.

[043] На **ФИГ. 29А-С** показано влияние рН от 5,5 до 6,5 на образование основного варианта в составе на основе гистидина/сахарозы, содержащем 20 мМ гистидина, 270 мМ сахарозы и 0,01% полисорбата 20. На **ФИГ. 29А** показано образование основного варианта, указывающее на то, что при рН 5,5-6,0 через 1 месяц при 40 °С % основных вариантов в целом сохранял значение от 10% до 20%. На **ФИГ. 29В** показано образование

основного варианта, указывающее на то, что при рН 5,5-6,0 через 3 месяца при 25 °С % основных вариантов в целом сохранял значение от 20% до 30%. На **ФИГ. 29С** показано образование основного варианта, указывающее на то, что при всех значениях рН через 6 месяцев при 5 °С % основных вариантов в целом сохранял значение от 25% до 30%.

[044] На **ФИГ. 30А-С** показано влияние рН от 5,5 до 6,5 на образование основного варианта в составе на основе гистидина/аргинина, содержащем 20 мМ гистидина, 150 мМ аргинина и 0,01% полисорбата 20. На **ФИГ. 30А** показано образование основного варианта, указывающее на то, что при рН 5,5-6,0 через 1 месяц при 40 °С % основных вариантов в целом сохранял значение от 10% до 20%. На **ФИГ. 30В** показано образование основного варианта, указывающее на то, что при рН 5,5-6,0 через 3 месяца при 25 °С % основных вариантов в целом сохранял значение от 15% до 25%. На **ФИГ. 30С** показано образование основного варианта, указывающее на то, что при всех значениях рН через 6 месяцев при 5 °С % основных вариантов в целом сохранял значение от 25% до 30%.

[045] Подробнее о приведенных выше фигурах см. раздел Примеры в данном документе.

Подробное описание сущности изобретения

[046] Заголовки разделов, используемые в настоящем описании, предназначены только для организационных целей и не должны толковаться как ограничивающие описанный предмет. Все ссылки, приведенные в данном документе, в том числе патентные заявки и публикации, включены в данный документ посредством ссылки в полном объеме для любых целей.

### **Определения**

[047] Если не указано иное, научные и технические термины, используемые в данном изобретении, должны иметь значения, которые обычно понимаются специалистами в данной области техники. Кроме того, если контекст не требует иного, термины в единственном числе включают множественное число, а термины во множественном числе включают единственное число.

[048] В данной заявке применение «или» означает «и/или», если не указано иное. В контексте пункта патентной формулы, зависящего от другого зависимого пункта, использование «или» отсылает к более чем одному предыдущему независимому или зависимому пункту формулы изобретения только в качестве альтернативы. Кроме того, такие термины, как «элемент» или «компонент» охватывают как элементы, так и компоненты, содержащие одну единицу, и элементы и компоненты, которые содержат более одной субъединицы, если конкретно не указано иное.

[049] Как описано в данном документе любой диапазон концентраций, процентный диапазон, диапазон соотношений или целочисленный диапазон следует понимать как включающий значение любого целого числа в указанном диапазоне и, при необходимости, части целого числа (например, одна десятая и одна сотая часть целого числа), если не указано иное.

[050] Единицы, префиксы и символы обозначаются в их общепринятой форме

Международной системы единиц измерения (СИ). Числовые диапазоны включают числа, определяющие диапазон. Измеренные значения считаются приблизительными с учетом значащих цифр и ошибки, связанной с измерением.

[051] Заголовки, представленные в данном документе, не являются ограничениями различных аспектов изобретения, которые могут быть осуществлены со ссылкой на спецификацию в целом. Соответственно, термины, определенные ниже, определены в более полном объеме со ссылкой на это описание в целом.

[052] Используемые в соответствии с настоящим изобретением следующие термины, если не указано иное, следует понимать как имеющие следующие значения:

[053] **«Введение»** относится к физическому введению субъекту композиции, содержащей терапевтическое средство, с использованием любого из различных способов и систем доставки, известных специалисту в данной области. Обычные способы введения для антител включают внутривенные (в/в), внутримышечные, подкожные (п/к), внутрибрюшинные, спинальные или другие парентеральные способы введения, например посредством инъекции или инфузии. В контексте данного документа выражение «парентеральное введение» означает режимы введения, отличные от энтерального и местного введения, обычно посредством инъекции, и включают, без ограничения, внутривенную, внутримышечную, внутриартериальную, интратекальную, внутрилимфатическую, внутриочаговую, интракапсулярную, интраорбитальную, внутрисердечную, интрадермальную, внутрибрюшинную, транстрахеальную, подкожную, субкутикулярную, внутрисуставную, субкапсулярную, субарахноидальную, интраспинальную, эпидуральную и интрастернальную инъекцию и инфузию, а также электропорацию *in vivo*. Непарентеральные способы включают местный, эпидермальный способ или способ введения через слизистую оболочку, например перорально, интраназально, вагинально, ректально, сублингвально или наружно. Введение также может быть выполнено, например, один раз, много раз и/или в течение одного или нескольких продолжительных периодов.

[054] В контексте данного документа **«фармацевтический состав»** или **«терапевтический состав»** относятся к композиции, содержащей терапевтическое средство, такое как антитело, которое пригодно для фармацевтического применения, такого как, например, введение пациенту либо непосредственно, либо после восстановления, разбавления, смешивания или растворения по меньшей мере с одной дополнительной композицией или оттаивания из замороженного состояния. В контексте данного документа **«готовый к применению»** состав означает состав, который можно вводить пациенту непосредственно и, следовательно, его не нужно разводить, восстанавливать, оттаивать из замороженного состояния, растворять в растворе или смешивать с другими ингредиентами перед введением.

[055] В контексте данного документа **«подкожное введение»** относится к введению терапевтического средства под кожу. В некоторых случаях подкожное введение (сокращенно п/к или SubQ) можно осуществлять с использованием иглы, соединенной со

шприцем или насосом, или с особым типом инъекционного устройства (например, EpiPen® и т.п.). В некоторых случаях п/к введение может высвобождать терапевтическое средство в ткань между слоями кожи и мышц, и в некоторых случаях - в слой мышц.

[056] В контексте данного документа «**инъекционный**» состав представляет собой состав, который пригоден для введения посредством п/к инъекции.

[057] В контексте данного документа «**внутривенное введение**» относится к введению терапевтического средства непосредственно в вену субъекта. Внутривенное введение может осуществляться посредством «**внутривенной инфузии**». Инфузия относится к применению давления, обеспечиваемого гравитацией, для доставки терапевтического средства в организм пациента.

[058] Составы по настоящему изобретению могут содержаться во «**флаконах**». «Флакон» по настоящему документу относится к любому небольшому контейнеру, пригодному для хранения жидкого фармацевтического состава. В некоторых случаях «флакон» может быть соединен со шприцем или насосом, или «флакон» может представлять собой часть устройства для введения, например, для инъекирования содержимого флакона в организм пациента. В некоторых вариантах осуществления составы могут содержаться в «**одноразовых флаконах**». «Одноразовый флакон» относится к «флакону», в котором после введения содержимого весь флакон или оставшееся содержимое флакона утилизируют.

[059] Термин «**лиофилизированный**» применительно к составу, материалу или композиции относится к высушенному сублимацией составу, материалу или композиции.

[060] Применяемый в данном документе термин «**жидкий состав**» означает состав, который находится в жидком состоянии, включая, например, раствор или жидкую эмульсию.

[061] В контексте данного документа «**буфер**» представляет собой вещество, которое при добавлении в раствор или состав препятствует значительным изменениям pH при разведении или при добавлении кислотных или основных компонентов. Иллюстративные буферы по настоящему изобретению включают гистидиновый, цитратный и фосфатный буферы.

[062] В контексте данного документа «**изотоничный**» состав представляет собой состав, который характеризуется осмотическим давлением, которое приблизительно равно давлению биологических жидкостей человека, в которые вводят состав или которые находятся в области введения, например плазма крови человека или лимфатическая жидкость человека.

[063] В контексте данного документа «**агрегация**» или «**агрегация белка**» в составе относится к агрегации полипептидных молекул в составе. Количество полипептидов в составе, которые находятся в агрегированном состоянии, например в димерах или мультимерах, может выражаться, например, в виде процентного содержания от общего количества полипептида в составе. Агрегация может быть обнаружена, например, посредством эксклюзионной хроматографии или других методик, в ходе

которых разделяются белки в растворе в зависимости от размера или молекулярной массы. В таких методиках количество **«агрегатов»** может быть эквивалентно количеству полипептидов в составе, молекулярная масса которых по меньшей мере в два раза превышает молекулярную массу главных видов полипептидов в составе (например, антитело к FGFR2-IIIb). Виды с молекулярной массой, в два раза превышающей молекулярную массу главных видов полипептидов в составе могут рассматриваться в данном документе как **«димеры»**, тогда как детектируемые виды с молекулярной массой, превышающей молекулярную массу димеров, могут быть названы **«агрегатами с более высокой молекулярной массой»**, **«мультимерами»** или аналогичным термином.

[064] Выражение **«в темноте»** относительно хранения состава по настоящему изобретению означает, что состав хранят таким образом, что он защищен от воздействия окружающего и ультрафиолетового света. Например, состав можно хранить в темной комнате или помещении, или внутри упаковки, которая защищает состав от такого света, или внутри флакона со стенками, выполненными из материала или покрытыми материалом, который защищает содержимое от такого света.

[065] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения фармацевтические составы **«не содержат»** один или более типов вспомогательных веществ или ингредиентов. Выражение «не содержит» в данном контексте означает, что исключенные ингредиенты не присутствуют за пределами следовых уровней, например, вследствие загрязнения или примесей, содержащихся в других намеренно добавленных ингредиентах.

[066] Термин **«по существу состоящий из»** относительно смеси ингредиентов состава по настоящему изобретению указывает на то, что, поскольку могут присутствовать ингредиенты, отличные от прямо указанных ингредиентов, например ингредиенты, обнаруженные только в следовых количествах или в количествах, достаточно низких, чтобы основные характеристики состава, включая концентрацию белка, вязкость, термическую стабильность, осмоляльность и pH, не изменились.

[067] Термины **«полипептид»** и **«белок»** используются взаимозаменяемо для обозначения полимера из аминокислотных остатков и не ограничены минимальной длиной. Такие полимеры из аминокислотных остатков могут содержать природные или не встречающиеся в природе аминокислотные остатки и включают, но не ограничиваются ими, пептиды, олигопептиды, димеры, тримеры и мультимеры из аминокислотных остатков. В это определение включены как полноразмерные белки, так и их фрагменты. Эти термины также включают пост-экспрессионные модификации полипептида, например гликозилирование, сиалирование, ацетилирование, фосфорилирование и тому подобное. Кроме того, для целей данного изобретения термин **«полипептид»** относится к белку, который содержит модификации, такие как делеции, добавления и замены (обычно консервативные по природе), по отношению к нативной последовательности, при условии, что белок сохраняет желаемую активность. Эти модификации могут быть преднамеренными, например путем сайт-направленного мутагенеза, или могут быть

случайными, например в результате мутаций хозяев, которые продуцируют белки, или ошибок вследствие ПЦР-амплификации.

[068] «**FGFR2**» относится к рецептору 2 фактора роста фибробластов человека, включая любые его альтернативно сплайсированные формы, такие как сплайс-формы IIIa, IIIb и IIIc, если явно не указан отличный от человеческого FGFR2 (например, «мышинный FGFR2») Термин FGFR2 охватывает FGFR2 дикого типа и встречающиеся в природе мутантные формы, например активирующие FGFR2 мутантные формы, такие как FGFR2-S252W, которые обнаружены в некоторых раковых клетках. «**FGFR2-IIIb**» или «**FGFR2b**» применяются взаимозаменяемо для обозначения сплайс-формы рецептора 2 фактора роста фибробластов IIIb. Иллюстративный FGFR2-IIIb человека показан в GenBank с учетным номером NP\_075259.4 от 7 июля 2013 г. Неограничивающая иллюстративная аминокислотная последовательность зрелого человеческого FGFR2-IIIb показана в SEQ ID NO: 1. «**FGFR2-IIIc**» или «**FGFR2c**» применяются взаимозаменяемо для обозначения сплайс-формы рецептора 2 фактора роста фибробластов IIIc. Иллюстративный FGFR2-IIIc человека показан в GenBank с учетным номером NP\_000132.3 от 7 июля 2013 г. Неограничивающий пример аминокислотной последовательности зрелого FGFR2-IIIc показан в SEQ ID NO: 13.

[069] Относительно антител к FGFR2-IIIb термины «**блокирует связывание**» или «**ингибирует связывание**» лиганда относятся к способности ингибировать взаимодействие между FGFR2-IIIb и лигандом FGFR2, например FGF1 или FGF2. Такое ингибирование можно осуществлять посредством любого механизма, включая прямое нарушение связывания лиганда, например, вследствие перекрытия сайтов связывания на FGFR2-IIIb и/или конформационных изменений в FGFR2-IIIb, индуцированных антителом, которые изменяют аффинность лиганда.

[070] «**Аффинность**» или «**аффинность связывания**» относятся к силе суммарного количества нековалентных взаимодействий между одним сайтом связывания молекулы (*например*, антителом) и ее партнером по связыванию (*например*, антигеном). В некоторых вариантах осуществления «аффинность связывания» обозначает аффинность собственного связывания, которая отражает взаимодействие 1:1 между членами пары связывания (*например*, антитело и антиген). Аффинность молекулы X к ее партнеру Y обычно может быть представлена константой диссоциации ( $K_d$ ).

[071] Термин «**антитело**» в контексте данного документа относится к молекуле, содержащей по меньшей мере гипервариабельные области (HVR) H1, H2 и H3 тяжелой цепи и L1, L2 и L3 легкой цепи, причем эта молекула способна связываться с антигеном. Термин антитело включает без ограничения антитела, содержащие полноразмерные тяжелые и легкие цепи, а также фрагменты, которые способны связывать антиген (также называемые в данном документе «антиген-связывающие фрагменты»), например Fv, одноцепочечный Fv (scFv), Fab, Fab' и (Fab')<sub>2</sub>. Термин антитело также включает, но не ограничивается ими, химерные антитела, гуманизированные антитела, человеческие антитела и антитела различных видов, таких как мышь, человек, яванский макак и т. д. Он

также включает антитела, конъюгированные с другими молекулами, такими как низкомолекулярные лекарственные препараты, биспецифические антитела и мультиспецифические антитела.

[072] Термин «**вариабельная область тяжелой цепи**» относится к области, содержащей HVR1 тяжелой цепи, каркасную область (FR) 2, HVR2, FR3 и HVR3. В некоторых вариантах осуществления вариабельная область тяжелой цепи также содержит по меньшей мере часть FR1 и/или по меньшей мере часть FR4.

[073] Термин «**константная область тяжелой цепи**» относится к области, содержащей по меньшей мере три константных домена тяжелой цепи, C<sub>H</sub>1, C<sub>H</sub>2 и C<sub>H</sub>3. Неограничивающие примеры константных областей тяжелой цепи включают  $\gamma$ ,  $\delta$  и  $\alpha$ . Неограничивающие примеры константных областей тяжелой цепи также включают  $\epsilon$  и  $\mu$ . Каждая константная область тяжелой цепи соответствует изотипу антитела. Например, антитело, содержащее константную область  $\gamma$ , представляет собой антитело IgG, антитело, содержащее константную область  $\delta$ , представляет собой антитело IgD, а антитело, содержащее константную область  $\alpha$ , представляет собой антитело IgA. Кроме того, антитело, содержащее константную область  $\mu$ , представляет собой антитело IgM, и антитело, содержащее константную область  $\epsilon$ , представляет собой антитело IgE. Определенные изотипы могут быть дополнительно подразделены на подклассы. Например, антитела IgG включают, но без ограничения этим, антитела IgG1 (содержащие константную область  $\gamma_1$ ), IgG2 (содержащие константную область  $\gamma_2$ ), IgG3 (содержащие константную область  $\gamma_3$ ) и IgG4 (содержащие константную область  $\gamma_4$ ); антитела IgA включают, но без ограничения этим, антитела IgA1 (содержащие константную область  $\alpha_1$ ) и антитела IgA2 (содержащие константную область  $\alpha_2$ ); и антитела IgM включают, но без ограничения этим, IgM1 и IgM2.

[074] Термин «**тяжелая цепь**» относится к полипептиду, содержащему по меньшей мере вариабельную область тяжелой цепи с лидерной последовательностью или без нее. В некоторых вариантах осуществления тяжелая цепь содержит по меньшей мере часть константной области тяжелой цепи. Термин «полноразмерная тяжелая цепь» относится к полипептиду, содержащему вариабельную область тяжелой цепи и константную область тяжелой цепи, с лидерной последовательностью или без нее.

[075] Термин «**вариабельная область легкой цепи**» относится к области, содержащей HVR1 легкой цепи, каркасную область (FR) 2, HVR2, FR3 и HVR3. В некоторых вариантах осуществления вариабельная область легкой цепи также содержит FR1 и/или FR4.

[076] Термин «**константная область легкой цепи**» относится к области, содержащей константный домен легкой цепи C<sub>L</sub>. Неограничивающие примеры константных областей легкой цепи также содержат  $\lambda$  и  $\kappa$ .

[077] Термин «**легкая цепь**» относится к полипептиду, содержащему по меньшей мере вариабельную область легкой цепи с лидерной последовательностью или без нее. В некоторых вариантах осуществления легкая цепь содержит по меньшей мере часть



константной области легкой цепи. Термин «полноразмерная легкая цепь» относится к полипептиду, содержащему переменную область легкой цепи и константную область легкой цепи, с лидерной последовательностью или без нее.

[078] Термин «**гипервариабельная область**» или «**HVR**» обозначает каждую из областей переменного домена антитела, являющихся гипервариабельными по последовательности и/или образующих структурно определенные петли («гипервариабельные петли»). Как правило, нативные четырехцепочечные антитела содержат шесть HVR: три в  $V_H$  (H1, H2, H3) и три в  $V_L$  (L1, L2, L3). HVR обычно содержат аминокислотные остатки из гипервариабельных петель и/или из «определяющих комплементарность областей» (CDR), причем последние характеризуются высочайшей изменчивостью последовательности и/или участвуют в распознавании антигенов. Примеры гипервариабельных петель соответствуют аминокислотным остаткам 26-32 (L1), 50-52 (L2), 91-96 (L3), 26-32 (H1), 53-55 (H2) и 96-101 (H3). (Chothia and Lesk, J. Mol. Biol. 196:901-917 (1987).) Иллюстративные CDR (CDR-L1, CDR-L2, CDR-L3, CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3) возникают у аминокислотных остатков 24-34 L1, 50-56 L2, 89-97 L3, 31-35 H1, 50-65 H2 и 95-102 H3. (Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD (1991)). Термины гипервариабельные области (HVR) и определяющие комплементарность области (CDR) обозначают части переменной области, которые образуют антигенсвязывающие области.

[079] «**Химерное антитело**» в контексте данного документа относится к антителу, содержащему по меньшей мере одну переменную область первого вида (например, мыши, крысы, яванского макака и т. д.) и по меньшей мере одну константную область второго вида (например, человека, яванского макака и т. д.). В некоторых вариантах осуществления химерное антитело содержит по меньшей мере одну переменную область мыши и по меньшей мере одну константную область человека. В некоторых вариантах осуществления химерное антитело содержит по меньшей мере одну переменную область яванского макака и по меньшей мере одну константную область человека. В некоторых вариантах осуществления химерное антитело содержит по меньшей мере одну переменную область крысы и по меньшей мере одну константную область мыши. В некоторых вариантах осуществления все переменные области химерного антитела относятся к первому виду, а все константные области химерного антитела относятся ко второму виду.

[080] Термин «**гуманизированное антитело**» в контексте данного документа относится к антителу, в котором по меньшей мере одна аминокислота в каркасной области нечеловеческой переменной области была заменена соответствующей аминокислотой из переменной области человека. В некоторых вариантах осуществления гуманизированное антитело содержит по меньшей мере одну человеческую константную область или ее фрагмент. В некоторых вариантах осуществления гуманизированное антитело представляет собой Fab, scFv, (Fab')<sub>2</sub> и т.д.

[081] В контексте данного документа «**антитело с привитой CDR**» или «**антитело с привитой HVR**» относится к гуманизированному антителу, в котором определяющие комплементарность области (CDR) или гипервариабельные области (HVR) первого (отличного от человеческого) вида были привиты на каркасные области (FR) второго (человеческого) вида.

[082] «**Антитело человека**» в контексте данного документа относится к антителам, полученным от людей, антителам, вырабатываемым у отличных от человека животных, которые содержат гены иммуноглобулина человека, таким как XenoMouse®, и антителам, отобранным при помощи *in vitro* способов, например фагового дисплея, причем в основе репертуара антител лежат последовательности иммуноглобулина человека.

[083] «**Афукозилированное**» антитело или «**лишенное фукозы**» антитело относится к антителам изотипов IgG1 или IgG3, лишенным фукозы в их гликозилировании константных областей. Гликозилирование человеческих IgG1 или IgG3 происходит в Asn297 (N297) в виде гликозилирования корового фукозилированного биантенного комплексного олигосахарида с окончанием из вплоть до 2 остатков Gal. В некоторых вариантах осуществления афукозилированное антитело лишено фукозы в положении Asn297. Такие структуры обозначают G0, G1 ( $\alpha$ 1,6 или  $\alpha$ 1,3) или G2 гликановыми остатками в зависимости от количества терминальных остатков Gal. *См., например*, Raju, T. S., *BioProcess Int.* 1: 44-53 (2003). Гликозилирование СНО-типа Fc-области антител описано, *например*, в Routier, F. H., *Glycoconjugate J.* 14: 201-207(1997). В популяции антител антитела считают афукозилированными, если <5% антител в популяции содержат фукозу в положении Asn297.

[084] «**Эффекторные функции**» относятся к биологической активности, относящейся к Fc-области антитела, которая варьируется в зависимости от изотипа антитела. Примеры эффекторных функций антитела включают следующее: связывание C1q и комплементзависимая цитотоксичность (КЗЦ); связывание рецептора Fc; антитело-зависимая опосредованная клетками цитотоксичность (АЗКЦ); фагоцитоз; подавление рецепторов клеточной поверхности (*например*, рецептор В-клеток); и активация В-клеток.

[085] «**Антитело-зависимая опосредованная клетками цитотоксичность**» или «**АЗКЦ**» относится к форме цитотоксичности, при которой секретированный Ig, связанный с рецепторами Fc (FcR), присутствующими на определенных цитотоксичных клетках (*например*, естественные клетки-киллеры, нейтрофилы и макрофаги) обеспечивает специфическое связывание данных цитотоксичных эффекторных клеток с несущей антиген клеткой-мишенью и последующее уничтожение данной клетки-мишени цитотоксинами. Первичные клетки для опосредования АЗКЦ, NK-клетки, экспрессируют только Fc $\gamma$ RIII, тогда как моноциты экспрессируют Fc $\gamma$ RI, Fc $\gamma$ RII и Fc $\gamma$ RIII. Данные по экспрессии FcR на гемопозитических клетках обобщены в таблице 3 на странице 464 Ravetch and Kinet, *Annu. Rev Immunol.* 9:457-92 (1991). Для оценки активности АЗКЦ интересующей молекулы может быть осуществлен *in vitro* анализ АЗКЦ, *например*, описанный в патентах США № 5500362, или 5821337, или патенте США № 6737056

(Presta). Пригодные эффекторные клетки для таких анализов включают моноклеарные клетки периферической крови (МКПК) и НК-клетки. В качестве альтернативы или дополнения, АЗКЦ-активность молекулы, представляющей интерес, можно оценить *in vivo*, *например*, в животной модели, например, согласно описанию в Clynes et al. Proc. Natl. Acad. Sci. (USA) 95:652-656 (1998). Дополнительные антитела с измененными аминокислотными последовательностями Fc-области и повышенной или пониженной активностью АЗКЦ описаны, *например*, в патенте США № 7923538 и патенте США № 7994290.

[086] Антитело, обладающее **«повышенной активностью АЗКЦ»**, относится к антителу, которое более эффективно опосредует АЗКЦ *in vitro* или *in vivo* по сравнению с родительским антителом, причем антитело и родительское антитело отличаются по меньшей мере в одном структурном аспекте, а количества такого антитела и родительского антитела, используемого в анализе, по существу, одинаковы. В некоторых вариантах осуществления антитело и родительское антитело имеют одинаковую аминокислотную последовательность, но антитело является афукозилированным, в то время как родительское антитело является фукозилированным. В некоторых вариантах осуществления активность АЗКЦ будет определяться с использованием анализа АЗКЦ *in vitro*, такого как раскрытый в публикации США № 2015-0050273-A1, однако можно также применять другие анализы или способы определения активности АЗКЦ, *например*, в животной модели и т. д. В других вариантах осуществления антитело с повышенной активностью АЗКЦ также обладает повышенной аффинностью к Fc-гамма R1A. В некоторых вариантах осуществления антитело с повышенной активностью АЗКЦ обладает повышенной аффинностью к Fc-гамма R1A (V158). В определенных вариантах осуществления антитело с повышенной активностью АЗКЦ обладает повышенной аффинностью к Fc-гамма R1A (F158).

[087] **«Повышенная аффинность к Fc-гамма R1A»** относится к антителу, обладающему большей аффинностью к Fc гамма R1A (также называемому в некоторых случаях CD16a), чем родительское антитело, причем антитело и родительское антитело отличаются по меньшей мере в одном структурном аспекте. В некоторых вариантах осуществления антитело и родительское антитело имеют одинаковую аминокислотную последовательность, но антитело является афукозилированным, в то время как родительское антитело является фукозилированным. Можно применять любой подходящий способ определения аффинности к Fc гамма R1A. В некоторых вариантах осуществления аффинность к Fc гамма R1A определяют способом, описанным в публикации США № 2015-0050273-A1. В других вариантах осуществления антитело с повышенной аффинностью к Fc гамма R1A также обладает повышенной активностью АЗКЦ. В определенных вариантах осуществления антитело с повышенной аффинностью к Fc гамма R1A обладает повышенной аффинностью к Fc гамма R1A (V158). В некоторых вариантах осуществления антитело с повышенной аффинностью к Fc гамма R1A обладает повышенной аффинностью к Fc гамма R1A (F158).

[088] Термин «**лидерная последовательность**» относится к последовательности аминокислотных остатков, расположенных на N-конце полипептида, которая облегчает секрецию полипептида из клетки млекопитающего. Лидерная последовательность может быть расщеплена при экспорте полипептида из клетки млекопитающего с образованием зрелого белка. Лидерные последовательности могут быть природными или синтетическими, и они могут быть гетерологичным или гомологичными белку, к которому они присоединены. Неограничивающие примеры лидерных последовательностей содержат лидерные последовательности из гетерологичных белков. В некоторых вариантах осуществления лидерная последовательность в антителе отсутствует. В других вариантах осуществления антитело содержит по меньшей мере одну лидерную последовательность, которая может быть выбрана из нативных лидерных последовательностей антитела и гетерологичных лидерных последовательностей.

[089] Термин «**выделенный**» в контексте данного документа относится к молекуле, которая была отделена по меньшей мере от некоторых компонентов, с которыми она обычно встречается в природе. Например, полипептид называется «выделенным», когда он отделен по меньшей мере от некоторых компонентов клетки, в которой он был продуцирован. В случае, когда полипептид секретируется клеткой после экспрессии, физическое отделение супернатанта, содержащего полипептид, от клетки, которая его продуцирует, считается «выделением» полипептида. Аналогичным образом, полинуклеотид называется «выделенным», если он не является частью большего полинуклеотида (например, геномная ДНК или митохондриальная ДНК, в случае полинуклеотида ДНК), в котором он обычно встречается в природе, или если он отделен от по меньшей мере некоторых из компонентов клетки, в которой он был получен, например в случае полинуклеотида РНК. Таким образом, полинуклеотид ДНК, который содержится в векторе внутри клетки-хозяина, может называться «выделенным» при условии, что такой полинуклеотид не встречается в этом векторе в природе.

[090] Термины «**субъект**» и «**пациент**» используют в данном документе взаимозаменяемо для обозначения человека. В некоторых вариантах осуществления также предлагаются способы лечения других млекопитающих, в том числе, но без ограничения этим, грызунов, обезьян, кошачьих, собачьих, лошадиных, крупного рогатого скота, свинных, овечьих, козых, млекопитающих лабораторных животных, млекопитающих сельскохозяйственных животных, млекопитающих спортивных животных, а также млекопитающих домашних животных.

[091] Термин «**рак**» применяют в данном документе для обозначения группы клеток, которые демонстрируют аномально высокие уровни пролиферации и роста. Рак может быть доброкачественным (также называемым доброкачественной опухолью), предраковым или злокачественным. Раковые клетки могут представлять собой солидные раковые клетки или лейкозные раковые клетки. Термин «**раковый рост**» применяют в данном документе для обозначения пролиферации или роста клетки или клеток, из которых состоит рак, что приводит к соответствующему увеличению размера или степени

рака.

[092] Примеры рака включают в себя без ограничения карциному, лимфому, бластому, саркому и лейкоз. Более конкретные неограничивающие примеры таких видов рака включают плоскоклеточный рак, мелкоклеточный рак легкого, рак гипофиза, рак пищевода, астроцитому, саркому мягких тканей, немелкоклеточный рак легкого (в том числе плоскоклеточный немелкоклеточный рак легкого), аденокарциному легкого, плоскоклеточную карциному легкого, рак брюшины, гепатоцеллюлярный рак, рак желудочно-кишечного тракта, рак поджелудочной железы, глиобластому, рак шейки матки, рак яичников, рак печени, рак мочевого пузыря, гепатому, рак молочной железы, рак толстой кишки, рак толстой и прямой кишок, карциному эндометрия или матки, карциному слюнной железы, рак почки, почечно-клеточную карциному, рак печени, рак предстательной железы, рак влагалища, рак щитовидной железы, карциному печени, рак головного мозга, рак эндометрия, рак яичка, холангиокарциному, рак желчного пузыря, рак желудка, меланому и различные типы рака головы и шеи (в том числе плоскоклеточную карциному головы и шеи).

[093] В контексте данного документа «**лечение**» относится к терапевтическому лечению, например, с целью излечения состояния или расстройства, для снижения тяжести или замедления прогрессирования состояния или расстройства или ингибирования рецидива состояния или расстройства. В определенных вариантах осуществления термин «**лечение**» охватывает любое введение или применение терапевтического средства в случае заболевания у пациента и включает ингибирование или замедление заболевания или прогрессирования заболевания; частичное или полное купирование заболевания, например, при помощи инициации регрессии, восстановления или исправления утерянной, отсутствующей или нарушенной функции; стимулирования неэффективного процесса; или выведения заболевания на плато для того, чтобы добиться снижения степени тяжести. Термин «**лечение**» также включает снижение степени тяжести любой фенотипической характеристики и/или снижение распространенности, степени или вероятности этой характеристики. Те, кто нуждается в лечении, включают тех, кто уже имеет расстройство, а также тех, кто подвержен риску повторного появления расстройства, или тех, у кого необходимо предотвратить или замедлить повторное появление расстройства.

[094] Термин «**эффективное количество**» или «**терапевтически эффективное количество**» относится к количеству лекарственного средства, эффективному для лечения у субъекта заболевания или расстройства. В определенных вариантах осуществления эффективное количество относится к количеству, эффективному в дозах и в течение периодов времени, необходимых для достижения желаемого терапевтического результата. Терапевтически эффективное количество антитела к FGFR2 по настоящему изобретению могут варьировать в зависимости от таких факторов, как состояние заболевания, возраст, пол и масса пациента, и способность антитела или антител вызывать необходимый ответ у индивида. Терапевтически эффективное количество охватывает

количество, при котором любые токсические или вредные эффекты антитела или антител перевешиваются терапевтически полезными эффектами. В некоторых вариантах осуществления выражение «эффективное количество» обозначает количество антитела, которое является эффективным для лечения рака.

[095] Дополнительные определения приведены в следующих разделах.

Антитела к FGFR2

[096] В любом составе, описанном в данном документе, включающем антитело к FGFR2, антитело к FGFR2 может представлять собой моноклональное антитело, генетически сконструированное антитело, гуманизированное антитело, химерное антитело или человеческое антитело. В любой из композиций или способов, описанных в данном документе, антитело к FGFR2 может быть выбрано из Fab, Fv, scFv, Fab' и (Fab')<sub>2</sub>. В любой из композиций или составов, описанных в данном документе, антитело к FGFR2 может быть выбрано из IgA, IgG и IgD. В любой из композиций или составов, описанных в настоящем документе, антитело к FGFR2 может представлять собой IgG. В любом из способов, описанных в настоящем документе, антитело может представлять собой IgG1 или IgG3.

[097] Иллюстративные антитела к FGFR2 включают антитела, которые связываются с FGFR2-IIIb. В некоторых вариантах осуществления антитела к FGFR2-IIIb связывают FGFR2-IIIc с более низкой аффинностью, чем они связываются с FGFR2-IIIb. В других вариантах осуществления антитела к FGFR2-IIIb не связываются с FGFR2-IIIc обнаруживаемым образом.

[098] Предлагаемым в качестве примера антителом к FGFR2-IIIb для использования в вариантах осуществления настоящего изобретения является антитело к HuGAL-FR21, описанное в патенте США № 8101723 B2, выданном 24 января 2012 г., содержание которого специально включено в данный документ посредством ссылки. На фигурах 13 и 14 патента США № 8101723 B2 показаны аминокислотные последовательности переменных областей и полноразмерных цепей зрелых антител HuGAL-FR21, и они включены в настоящее описание посредством ссылки. Последовательности переменной области тяжелой цепи антитела HuGAL-FR21 подчеркнуты на фигуре 13 патента США № 8101723 B2 и специально включены в настоящий документ посредством ссылки. В некоторых вариантах осуществления антитело является афукозилированным. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой антитело IgG1 или IgG3, у которого отсутствует фукоза в положении Asn297. Дополнительные антитела, которые могут быть использованы в вариантах осуществления в настоящем документе, включают антитела, описанные в патентной публикации США № 2015-0050273-A1, в которой описаны определенные афукозилированные антитела к FGFR2-IIIb, и которая включена в настоящее описание посредством ссылки.

[099] В некоторых вариантах осуществления антитело к FGFR2-IIIb содержит по меньшей мере одну, две, три, четыре, пять или шесть гиперпеременных областей (HVR;

например, CDR), выбранных из (a) HVR-H1, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 6; (b) HVR-H2, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 7; (c) HVR-H3, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 8; (d) HVR-L1, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 9; (e) HVR-L2, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 10; и (f) HVR-L3, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 11. В некоторых вариантах осуществления антитело является афукозилированным. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой антитело IgG1 или IgG3, у которого отсутствует фукоза в положении Asn297.

[0100] В некоторых вариантах осуществления антитело к FGFR2-IIIb содержит переменную область тяжелой цепи и переменную область легкой цепи. В некоторых вариантах осуществления антитело к FGFR2-IIIb содержит по меньшей мере одну тяжелую цепь, содержащую переменную область тяжелой цепи и по меньшей мере часть константной области тяжелой цепи, и по меньшей мере одну легкую цепь, содержащую переменную область легкой цепи и по меньшей мере часть константной области легкой цепи. В некоторых вариантах осуществления антитело к FGFR2-IIIb содержит две тяжелые цепи, причем каждая тяжелая цепь содержит переменную область тяжелой цепи и по меньшей мере часть константной области тяжелой цепи, и две легкие цепи, причем каждая легкая цепь содержит переменную область легкой цепи и по меньшей мере часть константной области легкой цепи. В некоторых вариантах осуществления антитело к FGFR2-IIIb содержит переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 4, и переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 5. В некоторых вариантах осуществления антитело к FGFR2-IIIb содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 2, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 3. В некоторых вариантах осуществления антитело афукозилировано. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой антитело IgG1 или IgG3, у которого отсутствует фукоза в положении Asn297.

[0101] В некоторых вариантах осуществления антитело к FGFR2-IIIb содержит шесть HVR, содержащих (a) HVR-H1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 6; (b) HVR-H2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 7; (c) HVR-H3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 8; (d) HVR-L1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 9; (e) HVR-L2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 10; и (f) HVR-L3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 11. В некоторых вариантах осуществления, антитело к FGFR2-IIIb содержит шесть HVR, как описано выше, и связывается с FGFR2-IIIb. В некоторых вариантах осуществления антитело к FGFR2-IIIb не связывается с FGFR2-IIIc. В некоторых вариантах осуществления антитело

является афукозилированным. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой антитело IgG1 или IgG3, у которого отсутствует фукоза в положении Asn297.

[0102] В одном аспекте антитело к FGFR2-IIIb конкурирует с антителом к FGFR2-IIIb, содержащим шесть HVR, содержащих (a) HVR-H1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 6; (b) HVR-H2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 7; (c) HVR-H3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 8; (d) HVR-L1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 9; (e) HVR-L2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 10; и (f) HVR-L3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 11. В некоторых вариантах осуществления антитело является афукозилированным. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой антитело IgG1 или IgG3, у которого отсутствует фукоза в положении Asn297.

[0103] В некоторых вариантах осуществления антитело к FGFR2-IIIb содержит по меньшей мере одну, по меньшей мере две или все три последовательности VH HVR, выбранные из (a) HVR-H1, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 6; (b) HVR-H2, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 7; и (c) HVR-H3, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 8. В некоторых вариантах осуществления антитело афукозилировано. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой антитело IgG1 или IgG3, у которого отсутствует фукоза в положении Asn297.

[0104] В некоторых вариантах осуществления антитело к FGFR2-IIIb содержит по меньшей мере одну, по меньшей мере две или все три последовательности VL HVR, выбранные из (a) HVR-L1, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 9; (b) HVR-L2, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 10; и (c) HVR-L3, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 11. В некоторых вариантах осуществления антитело является афукозилированным. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой антитело IgG1 или IgG3, у которого отсутствует фукоза в положении Asn297.

[0105] В некоторых вариантах осуществления антитело к FGFR2-IIIb содержит (a) домен VH, содержащий по меньшей мере одну, по меньшей мере две или все три последовательности VH HVR, выбранные из (i) HVR-H1, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 6, (ii) HVR-H2, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 7, и (iii) HVR-H3, содержащей аминокислотную последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 8; и (b) домен VL, содержащий по меньшей мере одну, по меньшей мере две или все три последовательности VL HVR, выбранные из (i) HVR-L1, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 9, (ii) HVR-L2, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 10, и (c) HVR-L3, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 11. В некоторых



вариантах осуществления антитело является афукозилированным. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой антитело IgG1 или IgG3, у которого отсутствует фукоза в положении Asn297.

[0106] В некоторых вариантах осуществления антитело к FGFR2-IIIb содержит последовательность переменного домена тяжелой цепи (VH), по меньшей мере на 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичную аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 4. В определенных вариантах осуществления последовательность VH, идентичная по меньшей мере на 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99%, содержит замещения (например, консервативные замещения), вставки или делеции относительно указанной последовательности, но антитело к FGFR2-IIIb, содержащее данную последовательность, сохраняет способность связываться с FGFR2-IIIb. В некоторых вариантах осуществления такое антитело к FGFR2-IIIb сохраняет способность избирательно связываться с FGFR2-IIIb без обнаруживаемого связывания с FGFR2-IIIc. В определенных вариантах осуществления всего было замещено, вставлено или удалено от 1 до 10 аминокислот в SEQ ID NO: 4. В определенных вариантах осуществления замещения, вставки или делеции возникают в областях за пределами HVR (т.е. в FR). Необязательно антитело к FGFR2-IIIb содержит последовательность VH в SEQ ID NO: 5, включая посттрансляционные модификации данной последовательности. В конкретном варианте осуществления VH содержит одну, две или три HVR, выбранные из: (a) HVR-H1, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 6; (b) HVR-H2, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 7; и (c) HVR-H3, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 8. В некоторых вариантах осуществления антитело афукозилировано. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой антитело IgG1 или IgG3, у которого отсутствует фукоза в положении Asn297.

[0107] В некоторых вариантах осуществления антитело к FGFR2-IIIb содержит переменный домен легкой цепи (VL) по меньшей мере на 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичный аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 5. В определенных вариантах осуществления последовательность VL, идентичная по меньшей мере на 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99%, содержит замещения (например, консервативные замещения), вставки или делеции относительно указанной последовательности, но антитело к FGFR2-IIIb, содержащее данную последовательность, сохраняет способность связываться с FGFR2-IIIb. В некоторых вариантах осуществления антитело к FGFR2-IIIb сохраняет способность избирательно связываться с FGFR2-IIIb без связывания с FGFR2-IIIc. В определенных вариантах осуществления всего было замещено, вставлено или удалено от 1 до 10 аминокислот в SEQ ID NO: 5. В определенных вариантах осуществления замещения, вставки или делеции возникают в областях за пределами HVR (т.е. в FR). Необязательно антитело к FGFR2-IIIb содержит последовательность VL в SEQ ID NO: 4, включая посттрансляционные модификации данной последовательности. В конкретном варианте

осуществления VL содержит одну, две или три HVR, выбранные из (a) HVR-L1, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 9; (b) HVR-L2, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 10; и (c) HVR-L3, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 11. В некоторых вариантах осуществления антитело является афукозилированным. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой антитело IgG1 или IgG3, у которого отсутствует фукоза в положении Asn297.

[0108] В некоторых вариантах осуществления антитело к FGFR2-IIIb содержит последовательность переменного домена тяжелой цепи (VH), по меньшей мере на 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичную аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 4, и переменный домен легкой цепи (VL), по меньшей мере на 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичный аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 5. В определенных вариантах осуществления последовательность VH, идентичная по меньшей мере на 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99%, содержит замещения (например, консервативные замещения), вставки или делеции относительно указанной последовательности, и последовательность VL, идентичная по меньшей мере на 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99%, содержит замещения (например, консервативные замещения), вставки или делеции относительно указанной последовательности, но антитело к FGFR2-IIIb, содержащее данную последовательность, сохраняет способность связываться с FGFR2-IIIb. В некоторых вариантах осуществления такое антитело к FGFR2-IIIb сохраняет способность избирательно связываться с FGFR2-IIIb без связывания с FGFR2-IIIc. В определенных вариантах осуществления всего было замещено, вставлено или удалено от 1 до 10 аминокислот в SEQ ID NO: 4. В определенных вариантах осуществления было замещено, вставлено или удалено от 1 до 10 аминокислот в SEQ ID NO: 5. В определенных вариантах осуществления замещения, вставки или делеции возникают в областях за пределами HVR (т.е. в FR). Необязательно антитело к FGFR2-IIIb содержит последовательность VH в SEQ ID NO: 4 и последовательность VL в SEQ ID NO: 5, включая посттрансляционные модификации одной или обеих последовательностей. В конкретном варианте осуществления VH содержит одну, две или три HVR, выбранные из: (a) HVR-H1, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 6; (b) HVR-H2, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 7; и (c) HVR-H3, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 8; и VL содержит одну, две или три HVR выбранные из (a) HVR-L1, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 9; (b) HVR-L2, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 10; и (c) HVR-L3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 11. В некоторых вариантах осуществления антитело является афукозилированным. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой антитело IgG1 или IgG3, у которого отсутствует фукоза в положении Asn297.

[0109] В некоторых вариантах осуществления антитело к FGFR2-IIIb имеет VH, как в любом из вариантов осуществления, представленных выше, и VL, как в любом из вариантов осуществления, представленных выше. В одном варианте осуществления антитело содержит последовательности VH и VL в SEQ ID NO: 4 и SEQ ID NO: 5, соответственно, включая посттрансляционные модификации данных последовательностей. В некоторых вариантах осуществления антитело является афукозилированным. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой антитело IgG1 или IgG3, у которого отсутствует фукоза в положении Asn297.

[0110] В некоторых вариантах осуществления антитело к FGFR2-IIIb содержит последовательность тяжелой цепи, по меньшей мере на 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичную аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 2. В определенных вариантах осуществления последовательность тяжелой цепи, идентичная по меньшей мере на 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99%, содержит замещения (например, консервативные замещения), вставки или делеции относительно указанной последовательности, но антитело к FGFR2-IIIb, содержащую данную последовательность, сохраняет способность связываться с FGFR2-IIIb. В некоторых вариантах осуществления такое антитело к FGFR2-IIIb сохраняет способность избирательно связываться с FGFR2-IIIb без обнаруживаемого связывания с FGFR2-IIIc. В определенных вариантах осуществления всего было замещено, вставлено или удалено от 1 до 10 аминокислот в SEQ ID NO: 2. В определенных вариантах осуществления замещения, вставки или делеции возникают в областях за пределами HVR (т.е. в FR). Необязательно тяжелая цепь антитела к FGFR2-IIIb содержит последовательность VH в SEQ ID NO: 2, включая посттрансляционные модификации данной последовательности. В конкретном варианте осуществления тяжелая цепь содержит одну, две или три, HVR выбранные из: (a) HVR-H1, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 6; (b) HVR-H2, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 7; и (c) HVR-H3, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 8. В некоторых вариантах осуществления антитело афукозилировано. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой антитело IgG1 или IgG3, у которого отсутствует фукоза в положении Asn297.

[0111] В некоторых вариантах осуществления антитело к FGFR2-IIIb содержит легкую цепь, по меньшей мере на 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, или 100% идентичную аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 3. В определенных вариантах осуществления последовательность легкой цепи, идентичная по меньшей мере на 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99%, содержит замещения (например, консервативные замещения), вставки или делеции относительно указанной последовательности, но антитело к FGFR2-IIIb, содержащее данную последовательность, сохраняет способность связываться с FGFR2-IIIb. В некоторых вариантах осуществления такое антитело к FGFR2-IIIb сохраняет способность избирательно связываться с FGFR2-IIIb без обнаруживаемого связывания с FGFR2-IIIc. В

определенных вариантах осуществления всего было замещено, вставлено или удалено от 1 до 10 аминокислот в SEQ ID NO: 3. В определенных вариантах осуществления замещения, вставки или делеции возникают в областях за пределами HVR (т.е. в FR). Необязательно легкая цепь антитела к FGFR2-IIIb содержит последовательность VL в SEQ ID NO: 3, включая посттрансляционные модификации данной последовательности. В конкретном варианте осуществления легкая цепь содержит одну, две или три, выбранные из (a) HVR-L1, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 9; (b) HVR-L2, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 10; и (c) HVR-L3, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 11. В некоторых вариантах осуществления антитело является афукозилированным. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой антитело IgG1 или IgG3, у которого отсутствует фукоза в положении Asn297.

[0112] В некоторых вариантах осуществления антитело к FGFR2-IIIb содержит последовательность тяжелой цепи, по меньшей мере на 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичную аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 2, и последовательность легкой цепи, по меньшей мере на 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичную аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 3. В определенных вариантах осуществления последовательность тяжелой цепи, идентичная по меньшей мере на 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99%, содержит замещения (например, консервативные замещения), вставки или делеции относительно указанной последовательности, но антитело к FGFR2-IIIb, содержащее данную последовательность, сохраняет способность связываться с FGFR2-IIIb. В некоторых вариантах осуществления такое антитело к FGFR2-IIIb сохраняет способность избирательно связываться с FGFR2-IIIb без обнаруживаемого связывания с FGFR2-IIIc. В некоторых вариантах осуществления, последовательность легкой цепи, идентичная по меньшей мере на 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99%, содержит замены (например, консервативные замены), вставки или делеции относительно эталонной последовательности, но антитело к FGFR2-IIIb, содержащее эту последовательность, сохраняет способность связываться с FGFR2-IIIb. В некоторых вариантах осуществления такое антитело к FGFR2-IIIb сохраняет способность избирательно связываться с FGFR2-IIIb без обнаруживаемого связывания с FGFR2-IIIc. В определенных вариантах осуществления всего было замещено, вставлено или удалено от 1 до 10 аминокислот в SEQ ID NO: 2. В определенных вариантах осуществления было замещено, вставлено или удалено от 1 до 10 аминокислот в SEQ ID NO: 3. В определенных вариантах осуществления замещения, вставки или делеции возникают в областях за пределами HVR (т.е. в FR). Необязательно, тяжелая цепь антитела к FGFR2-IIIb содержит последовательность VH в SEQ ID NO: 2, включая посттрансляционные модификации данной последовательности, и легкая цепь антитела к FGFR2-IIIb содержит последовательность VL в SEQ ID NO: 3, включая посттрансляционные модификации данной последовательности. В конкретном варианте осуществления тяжелая цепь

содержит одну, две или три HVR, выбранные из: (a) HVR-H1, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 6; (b) HVR-H2, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 7; и (c) HVR-H3, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 8; и легкая цепь содержит одну, две или три HVR, выбранные из (a) HVR-L1, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 9; (b) HVR-L2, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 10; и (c) HVR-L3, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 11. В некоторых вариантах осуществления антитело является афукозилированным. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой антитело IgG1 или IgG3, у которого отсутствует фукоза в положении Asn297.

[0113] Дополнительными предлагаемыми в качестве примеров антителами к FGFR2 являются антитела GAL-FR22 и GAL-FR23, описанные в патенте США № 8101723 B2, включенном в настоящий документ посредством ссылки. Варибельные области легкой и тяжелой цепи GAL-FR22, например, представлены в виде SEQ ID NO: 7 и 8 в патенте № 8101723 B2, тогда как CDR по Kabat и варибельные области легкой и тяжелой цепи также представлены на фиг. 16 данного патента, который включен в настоящий документ посредством ссылки. Гибридомы, продуцирующие GAL-FR21, GAL-FR22 и GAL-FR23, были депонированы в Американской коллекции типовых культур, PO Box 1549, Манассас, Вирджиния, США, 20108, под номерами ATCC 9586, 9587 и 9408, 6 ноября, 6 ноября и 12 августа 2008 года, соответственно. Таким образом, в некоторых вариантах осуществления антитело к FGFR2 представляет собой антитело, содержащее аминокислотную последовательность антитела, полученного из одного из этих трех штаммов гибридомы.

[0114] Варибельные области тяжелой и легкой цепи GAL-FR22 также представлены в данном документе как SEQ ID NO: 15 и 19, тогда как CDR по Kabat представлены в данном документе как SEQ ID NO: 16-19 и 20-22. Таким образом, в некоторых вариантах осуществления варибельная область тяжелой цепи антитела к FGFR2-IIIb содержит следующее: (i) HVR1 (CDR1), содержащая аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 16; (ii) HVR2, содержащая аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 17; и (iii) HVR3, содержащая аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 18; и варибельная область легкой цепи содержит следующее: (iv) HVR1, содержащая аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 20; (v) HVR2, содержащая аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 21; и (vi) HVR3, содержащая аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 22.

[0115] В некоторых вариантах осуществления антитело к FGFR2 включает антитело к FGFR2-IIIb, в котором варибельный домен тяжелой цепи идентичен на по меньшей мере 95%, например по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% аминокислотной последовательности SEQ ID NO:15, или содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 15. В некоторых вариантах осуществления антитело к FGFR2 включает антитело к FGFR2-IIIb, в котором

вариабельный домен легкой цепи идентичен на по меньшей мере 95%, например по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% аминокислотной последовательности SEQ ID NO:19, или содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 19. В некоторых вариантах осуществления вариабельный домен тяжелой цепи по меньшей мере на 95%, например по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичен аминокислотной последовательности SEQ ID NO:15, или содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 39 и вариабельный домен легкой цепи по меньшей мере на 95%, например по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичен аминокислотной последовательности SEQ ID NO:19, или содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 19. В некоторых таких вариантах осуществления вариабельная область тяжелой цепи антитела к FGFR2-IIIb также содержит следующее: (i) HVR1 (CDR1), содержащая аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 16; (ii) HVR2, содержащая аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 17; и (iii) HVR3, содержащая аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 18; и/или вариабельная область легкой цепи также содержит следующее: (iv) HVR1, содержащая аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 20; (v) HVR2, содержащая аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 21; и (vi) HVR3, содержащая аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 22. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой антитело IgG1 или IgG3, у которого отсутствует фукоза в положении Asn297.

#### Афукозилированные антитела к FGFR2

[0116] В некоторых вариантах осуществления антитела к FGFR2, описанные в данном документе, имеют углеводную структуру, в котором отсутствует прикрепленная фукоза (непосредственно или опосредованно) на области Fc, т.е. антитела афукозилированы. В некоторых вариантах осуществления афукозилированное антитело представляет собой антитело IgG1 или IgG3, у которого отсутствует фукоза в положении Asn297.

[0117] В контексте настоящего документа антитела считаются афукозилированными, когда множество таких антител содержит по меньшей мере 95% афукозилированных антител. Количество фукозы может быть определено путем расчета среднего количества фукозы в сахарной цепи в Asn297 относительно суммы всех гликоструктур, присоединенных к Asn 297 (*например*, сложных, гибридных и высокоманнозных структур). Неограничивающие примеры способов обнаружения фукозы в антителе включают масс-спектрометрию MALDI-TOF (*см.*, *например*, WO 2008/077546), измерение при помощи ВЭЖХ высвобождаемых флуоресцентно меченных олигосахаридов (*см.*, *например*, Schneider et al., "N-Glycan analysis of monoclonal antibodies and other glycoproteins using UHPLC with fluorescence detection," Agilent Technologies, Inc. (2012); Lines, J. Pharm. Biomed. Analysis, 14: 601-608 (1996); Takahasi, J. Chrom., 720: 217-225 (1996)), измерение капиллярного электрофореза высвобожденных флуоресцентно

меченых олигосахаридов (см., например, Ma et al., Anal. Chem., 71: 5185-5192 (1999)) и ВЭЖХ с импульсным амперометрическим детектором для измерения моносахаридной композиции (см., например, Hardy, et al., Analytical Biochem., 170: 54-62 (1988)). В некоторых вариантах осуществления в композиции афукозилированных антител по настоящему изобретению, фукоза не обнаруживается посредством одного или более из данных способов.

[0118] Asn297 относится к остатку аспарагина, расположенному приблизительно в положении 297 в Fc-области (нумерация EU остатков в Fc-области); однако в заданной последовательности антитела Asn297 также может быть расположен приблизительно на  $\pm 3$  аминокислоты выше или ниже позиции 297, *то есть* между положениями 294 и 300, из-за незначительных вариаций последовательности в антителах. В антителе к FGFR2-IIIb, описанном в данном документе, Asn297 обнаружен в последовательности QYNST, и обозначен жирным и подчеркнутым шрифтом в таблице последовательности, показанной ниже, SEQ ID NO: 2.

[0119] Варианты фукозилирования могут иметь улучшенную функцию АЗКЦ. См., например, патентные публикации США № US 2003/0157108 (Presta, L.); US 2004/0093621 (Kyowa Hakko Kogyo Co., Ltd). Примеры публикаций в отношении «афукозилированных» или «обедненных по фукозе» антител включают следующие: US 2003/0157108; WO 2000/61739; WO 2001/29246; US 2003/0115614; US 2002/0164328; US 2004/0093621; US 2004/0132140; US 2004/0110704; US 2004/0110282; US 2004/0109865; WO 2003/085119; WO 2003/084570; WO 2005/035586; WO 2005/035778; WO2005/053742; WO2002/031140; Okazaki et al. J. Mol. Biol. 336:1239-1249 (2004); Yamane-Ohnuki et al. Biotech. Bioeng. 87: 614 (2004). Примеры клеточных линий, способных продуцировать афукозилированные антитела, включают клетки Lec13 CHO с недостатком фукозилирования белка (Ripka et al. Arch. Biochem. Biophys. 249:533-545 (1986); заявка на патент США № US 2003/0157108 A1, Presta, L; и WO 2004/056312 A1, Adams et al. особенно в примере 11), и нокаутные клеточные линии, такие как клеточные линии, лишённые функционального гена альфа-1,6-фукозилтрансферазы, FUT8, например, нокаутные клетки CHO (см., например, Yamane-Ohnuki et al. Biotech. Bioeng. 87: 614 (2004); Kanda, Y. et al., Biotechnol. Bioeng., 94(4):680-688 (2006); и WO2003/085107).

[0120] Антитела к FGFR2 в данном документе также могут содержать разделенные пополам олигосахариды, например в которых двухантенный олигосахарид, присоединенный к Fc-области антитела, делится пополам GlcNAc. Такие антитела могут иметь пониженное фукозилирование и/или улучшенную функцию АЗКЦ. Примеры таких антител описаны, например, в WO 2003/011878 (Jean-Mairet et al.); патенте США № 6602684 (Umana et al.); и US 2005/0123546 (Umana et al.). В некоторых вариантах осуществления антитела к FGFR2 имеют по меньшей мере один остаток галактозы в олигосахариде, присоединенном к Fc-области. Такие антитела могут иметь улучшенную функцию КЗЦ. Такие антитела описаны, например, в WO 1997/30087 (Patel et al.); WO 1998/58964 (Raju, S.); и WO 1999/22764 (Raju, S.).

[0121] В определенных вариантах осуществления изобретения афукозилированное антитело к FGFR2 опосредует АЗКЦ в присутствии эффекторных клеток человека более эффективно, чем антитело с такой же аминокислотной последовательностью, которое содержит фукозу. Как правило, активность АЗКЦ может быть определена с использованием анализа АЗКЦ *in vitro*, раскрытого в публикации США № 2015-0050273 А1, однако можно также применять другие анализы или способы определения активности АЗКЦ, *например*, в животной модели *и т. д.*

[0122] В некоторых вариантах осуществления антитело к FGFR2 содержит последовательности тяжелой и легкой цепи SEQ ID NO: 2 и 3. В других вариантах осуществления антитело, содержащее последовательности тяжелой и легкой цепи SEQ ID NO: 2 и 3, является афукозилированным.

#### Фармацевтические составы антител к FGFR2

[0123] В настоящем раскрытии представлены фармацевтические составы антител к FGFR2, которые пригодны для введения человеку. Антитела к FGFR2 могут представлять любые такие антитела, раскрытые в данном документе. Количество и тип композиций в фармацевтических составах выбраны таким образом, чтобы обеспечивать максимальную стабильность антитела и, таким образом, максимальный срок хранения.

[0124] Фармацевтические составы могут содержать, например, антитело к FGFR2, буфер, выбранный из гистидина, цитрата и фосфата, сахарозу и поверхностно-активное вещество. В некоторых вариантах осуществления составы по существу состоят из антитела к FGFR2, буфера, выбранного из гистидина, цитрата и фосфата, сахарозы и поверхностно-активного вещества. Фармацевтические составы могут в качестве альтернативы содержать, например, антитело к FGFR2, буфер, выбранный из гистидина, цитрата и фосфата, аргинин и поверхностно-активное вещество. В некоторых вариантах осуществления составы по существу состоят из антитела к FGFR2, буфера, выбранного из гистидина, цитрата и фосфата, аргинина и поверхностно-активного вещества. Фармацевтические составы могут содержать, например, антитело к FGFR2, гистидин, сахарозу и поверхностно-активное вещество. В некоторых вариантах осуществления составы по существу состоят из антитела к FGFR2, гистидина, сахарозы и поверхностно-активного вещества. Фармацевтические составы могут в качестве альтернативы содержать, например, антитело к FGFR2, гистидин, аргинин и поверхностно-активное вещество. В некоторых вариантах осуществления составы по существу состоят из антитела к FGFR2, гистидина, аргинина и поверхностно-активного вещества. В некоторых вариантах осуществления составы пригодны для внутривенного введения пациенту, например, посредством инфузии или инъекции. В других вариантах осуществления составы пригодны для подкожного введения пациенту, например, посредством инъекции. В определенных вариантах осуществления составы изотоничны биологическим жидкостям в области введения, например плазме крови человека или лимфатической жидкости.

[0125] В некоторых вариантах осуществления было обнаружено, что антитела к



FGFR2 по настоящему изобретению растворимы в водных составах до 180 мг/мл. В некоторых вариантах осуществления составы содержат 10-180 мг/мл антитела к FGFR2, или 10-30 мг/мл антитела к FGFR2, или, например, 10-25 мг/мл, 20-30 мг/мл, 15-25 мг/мл, 10-15 мг/мл, 15-20 мг/мл, 20-25 мг/мл, 18-22 мг/мл, 10 мг/мл, 11 мг/мл, 12 мг/мл, 13 мг/мл, 14 мг/мл, 15 мг/мл, 16 мг/мл, 17 мг/мл, 18 мг/мл, 19 мг/мл, 20 мг/мл, 21 мг/мл, 22 мг/мл, 23 мг/мл, 24 мг/мл, 25 мг/мл, 26 мг/мл, 27 мг/мл, 28 мг/мл, 29 мг/мл, или 30 мг/мл антитела к FGFR2. В некоторых вариантах осуществления составы содержат 20 мг/мл антитела.

[0126] В некоторых вариантах осуществления составы содержат гистидин, цитрат или фосфат в качестве буфера. В некоторых таких случаях буфер для состава по существу состоит из гистидина. В некоторых вариантах осуществления состав содержит 5-40 мМ гистидина, цитрата или фосфата, например 10-40 мМ, 10-30 мМ, 15-25 мМ, 10-20 мМ, 20-30 мМ, 15-20 мМ, 20-25 мМ, 25-30 мМ или 18-22 мМ. В некоторых вариантах осуществления состав содержит 10 мМ, 15 мМ, 16 мМ, 17 мМ, 18 мМ, 19 мМ, 20 мМ, 21 мМ, 22 мМ, 23 мМ, 24 мМ, 25 мМ, 26 мМ, 27 мМ, 28 мМ, 29 мМ, или 30 мМ гистидина, цитрата или фосфата, или диапазон, ограниченный двумя из данных концентраций. В определенных вариантах осуществления состав содержит 20 мМ гистидина, цитрата или фосфата.

[0127] В некоторых вариантах осуществления составы в качестве буфера содержат гистидин. В некоторых таких вариантах осуществления составы не содержат цитрат или фосфат. В некоторых таких случаях буфер для состава по существу состоит из гистидина. В некоторых вариантах осуществления составы в качестве буфера содержат цитрат. В некоторых таких вариантах осуществления составы не содержат гистидин или фосфат. В некоторых таких случаях буфер для состава по существу состоит из цитрата. В некоторых вариантах осуществления составы в качестве буфера содержат фосфат. В некоторых таких вариантах осуществления составы не содержат цитрат или гистидин. В некоторых таких случаях буфер для состава по существу состоит из фосфата.

[0128] В некоторых вариантах осуществления содержащий или по существу состоящий из гистидина в качестве буфера состав содержит 5-40 мМ гистидина, например 10-40 мМ, 10-30 мМ, 15-25 мМ, 10-20 мМ, 20-30 мМ, 15-20 мМ, 20-25 мМ, 25-30 мМ или 18-22 мМ гистидина. В некоторых вариантах осуществления состав содержит 10 мМ, 15 мМ, 16 мМ, 17 мМ, 18 мМ, 19 мМ, 20 мМ, 21 мМ, 22 мМ, 23 мМ, 24 мМ, 25 мМ, 26 мМ, 27 мМ, 28 мМ, 29 мМ, или 30 мМ гистидина, или диапазон, ограниченный двумя из данных концентраций. В некоторых вариантах осуществления состав содержит 20 мМ гистидина.

[0129] В некоторых вариантах осуществления поверхностно-активное вещество представляет собой полисорбат, например полисорбат 20 или полисорбат 80. В некоторых таких случаях состав содержит 0,001-0,1%, 0,002-0,1%, 0,01-0,1%, 0,005%-0,05%, 0,005%, 0,006%, 0,007%, 0,008%, 0,009%, 0,01%, 0,02%, 0,03%, 0,04%, 0,05%, 0,06%, 0,07%, 0,08%, 0,09% или 0,1% полисорбата 20 или 80. В некоторых вариантах осуществления состав содержит 0,005%-0,05% полисорбата 20, например 0,008%-0,012% полисорбата 20. В

других вариантах осуществления состав содержит 0,002-0,1% полисорбата 20. В некоторых вариантах осуществления состав содержит 0,01% полисорбата 20.

#### Составы, содержащие сахарозу

[0130] В некоторых вариантах осуществления состав содержит или по существу состоит из смеси антитела к FGFR2, гистидина, полисорбата (например, полисорбата 20) и сахарозы. Концентрации антитела, гистидина и полисорбата могут быть такими как, например, представлено выше. В некоторых вариантах осуществления сахара может быть обнаружена в количестве, которое обеспечивает изотоничность состава биологическим жидкостям. В некоторых вариантах осуществления состав содержит 200-300 мМ сахарозы, например 200-250 мМ, 250-300 мМ, 200 мМ, 210 мМ, 220 мМ, 230 мМ, 240 мМ, 250 мМ, 260 мМ, 270 мМ, 280 мМ, 290 мМ или 300 мМ. В некоторых вариантах осуществления состав содержит 250-300 мМ сахарозы. В других вариантах осуществления состав содержит 260-280 мМ сахарозы. В определенных вариантах осуществления состав содержит 250-270 мМ сахарозы. В некоторых вариантах осуществления состав содержит 270-300 мМ сахарозы. В других вариантах осуществления состав содержит 250 мМ, 260 мМ, 270 мМ или 280 мМ сахарозы. В определенных вариантах осуществления состав содержит 270 мМ сахарозы. В некоторых вариантах осуществления состав, содержащий сахарозу, не содержит аргинин.

[0131] В некоторых вариантах осуществления диапазон pH фармацевтического состава составляет от 5,0 до 7,0. В некоторых вариантах осуществления фармацевтический состав на основе сахарозы имеет pH 5,0-6,5, например 5,0-6,0, 5,5-6,0, 5,5-6,5, 5,8-6,2, 5,0, 5,1, 5,2, 5,3, 5,4, 5,5, 5,6, 5,7, 5,8, 5,9, 6,0, 6,1, 6,2, 6,3, 6,4 или 6,5. В некоторых вариантах осуществления pH составляет 5,8-6,2. В некоторых вариантах осуществления pH составляет 6,0.

#### Составы, содержащие аргинин

[0132] В некоторых вариантах осуществления состав содержит или по существу состоит из гистидина, аргинина, полисорбата (например полисорбата 20) и антитела. В некоторых таких вариантах осуществления состав не содержит сахарозу.

[0133] В некоторых вариантах осуществления аргинин содержится в концентрации 100-200 мМ, например 100-150 мМ, 150-200 мМ, 130-170 мМ или 140-160 мМ. В определенных вариантах осуществления аргинин присутствует в концентрации 100 мМ, 110 мМ, 120 мМ, 130 мМ, 140 мМ, 150 мМ, 160 мМ, 170 мМ, 180 мМ, 190 мМ или 200 мМ. В других вариантах осуществления аргинин присутствует в концентрации 140 мМ, 150 мМ или 160 мМ. В некоторых вариантах осуществления аргинин присутствует в концентрации 150 мМ.

[0134] В некоторых вариантах осуществления диапазон pH фармацевтического состава составляет от 5,0 до 7,0. В некоторых вариантах осуществления фармацевтический состав на основе аргинина имеет pH 5,0-6,5, например 5,0-6,0, 5,5-6,5, 5,5-6,0, 5,5-5,9, 5,6-5,8, 5,0, 5,1, 5,2, 5,3, 5,4, 5,5, 5,6, 5,7, 5,8, 5,9, 6,0, 6,1, 6,2, 6,3, 6,4 или 6,5. В некоторых вариантах осуществления pH составляет 5,5-5,9. В некоторых вариантах

осуществления рН составляет 5,6-5,8. В некоторых вариантах осуществления рН составляет 5,7.

Конкретные варианты осуществления составов

[0135] В других вариантах осуществления фармацевтический состав содержит 10-30 мг/мл антитела к FGFR2, 130-170 мМ аргинина или 250-290 мМ сахарозы, 0,002-0,1% полисорбата 20 и 10-30 мМ одного или более буферов, выбранных из гистидина, цитрата и фосфата, причем состав имеет рН 5,0-7,0. В некоторых таких случаях фармацевтический состав по существу состоит из 10-30 мг/мл антитела к FGFR2, 130-170 мМ аргинина или 250-290 мМ сахарозы, 0,002-0,1% полисорбата 20 и 10-30 мМ одного или более буферов, выбранных из гистидина, цитрата и фосфата, причем состав имеет рН 5,0-7,0.

[0136] В некоторых вариантах осуществления фармацевтический состав содержит 10-30 мг/мл антитела к FGFR2, 130-170 мМ аргинина или 250-290 мМ сахарозы, 0,005-0,05% полисорбата 20 и 10-30 мМ одного или более буферов, выбранных из гистидина, цитрата и фосфата, причем состав имеет рН 5,0-6,5. В некоторых вариантах осуществления фармацевтический состав по существу состоит из 10-30 мг/мл антитела к FGFR2, 130-170 мМ аргинина или 250-290 мМ сахарозы, 0,005-0,05% полисорбата 20 и 10-30 мМ одного или более буферов, выбранных из гистидина, цитрата и фосфата, причем состав имеет рН 5,0-6,5. В некоторых вариантах осуществления фармацевтический состав содержит 10-30 мг/мл антитела к FGFR2, 130-170 мМ аргинина или 250-290 мМ сахарозы, 0,005-0,05% полисорбата 20 и 10-20 мМ одного или более буферов, выбранных из гистидина, цитрата и фосфата, причем состав имеет рН 5,0-6,5. В некоторых вариантах осуществления фармацевтический состав по существу состоит из 10-20 мг/мл антитела к FGFR2, 130-170 мМ аргинина или 250-290 мМ сахарозы, 0,005-0,05% полисорбата 20 и 10-30 мМ одного или более буферов, выбранных из гистидина, цитрата и фосфата, причем состав имеет рН 5,0-6,5.

[0137] В некоторых вариантах осуществления фармацевтический состав содержит 10-30 мг/мл антитела к FGFR2, 140-160 мМ аргинина или 260-280 мМ сахарозы, 0,005-0,05% полисорбата 20 и 15-25 мМ одного или более буферов, выбранных из гистидина, цитрата и фосфата, причем состав имеет рН 5,5-6,5. В некоторых вариантах осуществления фармацевтический состав по существу состоит из 10-30 мг/мл антитела к FGFR2, 140-160 мМ аргинина или 260-280 мМ сахарозы, 0,005-0,05% полисорбата 20 и 15-25 мМ одного или более буферов, выбранных из гистидина, цитрата и фосфата, причем состав имеет рН 5,5-6,5. В некоторых вариантах осуществления фармацевтический состав содержит 10-20 мг/мл антитела к FGFR2, 140-160 мМ аргинина или 260-280 мМ сахарозы, 0,005-0,05% полисорбата 20 и 15-25 мМ одного или более буферов, выбранных из гистидина, цитрата и фосфата, причем состав имеет рН 5,5-6,5. В некоторых вариантах осуществления фармацевтический состав по существу состоит из 10-20 мг/мл антитела к FGFR2, 140-160 мМ аргинина или 260-280 мМ сахарозы, 0,005-0,05% полисорбата 20 и 15-25 мМ одного или более буферов, выбранных из гистидина, цитрата и фосфата, причем состав имеет рН 5,5-6,5.





осуществления фармацевтический состав по существу состоит из 10-20 мг/мл антитела к FGFR2, 270 mM сахарозы, 0,01% полисорбата 20 и 20 mM гистидина, причем состав имеет рН от 5,9 до 6,1 или 6,0.

[0145] В некоторых вариантах осуществления фармацевтический состав по существу состоит из 10-30 мг/мл антитела к FGFR2, 270 mM сахарозы, 0,01% полисорбата 20 и 20 mM гистидина, причем состав имеет рН от 5,0 до 6,0. В некоторых вариантах осуществления фармацевтический состав по существу состоит из 10-30 мг/мл антитела к FGFR2, 270 mM сахарозы, 0,01% полисорбата 20 и 20 mM гистидина, причем состав имеет рН от 5,5 до 6,0.

[0146] В некоторых вариантах осуществления состав не содержит определенные типы вспомогательных веществ. Например, в некоторых вариантах осуществления состав не содержит одно или более из следующего: сахарные спирты, белки, отличные от антитела к FGFR2, поверхностно-активные вещества, отличные от полисорбатов, и аминокислоты, отличные от аргинина и/или гистидина. В определенных вариантах осуществления, которые включают аргинин, состав не содержит одно или более из следующего: сахара, сахарные спирты, белки, отличные от антитела к FGFR2, поверхностно-активные вещества, отличные от полисорбатов, и аминокислоты, отличные от аргинина и гистидина. В некоторых вариантах осуществления, которые включают сахарозу, состав не содержит одно или более из следующего: сахара, отличные от сахарозы, сахарные спирты, белки, отличные от антитела к FGFR2, поверхностно-активные вещества, отличные от полисорбатов, и аминокислоты, отличные от гистидина. В некоторых вариантах осуществления, включающих аргинин, состав не содержит любое из следующего: сахара, сахарные спирты, белки, отличные от антитела к FGFR2, поверхностно-активные вещества, отличные от полисорбатов, и аминокислоты, отличные от аргинина и гистидина. В некоторых вариантах осуществления, включающих сахарозу, состав не содержит любое из следующего: сахара, отличные от сахарозы, сахарные спирты, белки, отличные от антитела к FGFR2, поверхностно-активные вещества, отличные от полисорбатов, и аминокислоты, отличные от гистидина. В определенных вариантах осуществления состав не содержит других буферных ингредиентов, отличных от гистидина, цитрата и/или фосфата. В определенных вариантах осуществления, в качестве буфера включающих гистидин, цитрат или фосфат, состав не содержит других буферных ингредиентов. Как отмечалось ранее в данной заявке, выражение «не включает» в данном контексте означает, что исключенные ингредиенты не присутствуют за пределами следовых уровней, например, вследствие загрязнения или примесей, обнаруженных в других намеренно добавленных ингредиентах.

#### Иллюстративные свойства составов

[0147] В некоторых вариантах осуществления состав хранят в виде жидкости и не лиофилизируют перед введением пациенту. В некоторых вариантах осуществления состав представляет собой готовый к применению жидкий состав, и, таким образом, его можно вводить пациенту непосредственно. Жидкий состав обеспечивает преимущество, которое

заключается в том, что он готов к применению и его легче вводить пациенту, чем лиофилизированные препараты. В других вариантах осуществления состав разводят в солевом растворе, воде или смешивают с другими веществами для разведения белка перед введением. Например, состав, разработанный для в/в инфузии, можно разводить в солевом растворе или другом подходящем буфере в пакет для в/в инфузии перед введением. В некоторых вариантах осуществления жидкий состав, например готовый к применению жидкий состав, вводят внутривенно непосредственно без разведения.

[0148] В некоторых вариантах осуществления состав вводят внутривенно, например, посредством внутривенной (в/в) инфузии. Введение можно осуществлять в больнице, клинике, амбулатории или другом медицинском учреждении. В/в введение обеспечивает введение белковых терапевтических средств в относительно больших объемах жидкости.

[0149] В других вариантах осуществления для более высоких концентраций белка (антитела) (например, более 300 мг/мл) фармацевтический состав по настоящему изобретению инъецируют или вводят подкожно, например, посредством инъекции, например, с использованием подкожного устройства для введения. В некоторых вариантах осуществления состав содержится во флаконе. В других вариантах осуществления флакон является частью или прикреплен к подкожному устройству для введения, например шприцу и игле. В некоторых вариантах осуществления флакон представляет собой одноразовый флакон. Флаконы по настоящему изобретению могут вмещать, например, 0,5 мл, 1 мл, 1,5 мл, 2 мл, или 3 мл состава. В некоторых вариантах осуществления полную однократную дозу антитела к FGFR2 можно вводить посредством одного, двух или трех подкожных введений. Таким образом, в некоторых таких вариантах осуществления полная однократная доза антитела может содержаться в одном, двух или трех одноразовых флаконах. В определенных вариантах осуществления флакон содержит 1-2 мл состава. Таким образом, в некоторых вариантах осуществления полная однократная доза для пациента может содержаться в одном флаконе на 1 мл, 1,5 мл, 2 мл, 2,5 мл или 3 мл или в двух или трех флаконах на 0,5 мл, 1 мл, 0,5 мл или 2 мл. В некоторых вариантах осуществления жидкий состав хранят в темноте, например хранят во флаконе в темноте.

[0150] В некоторых вариантах осуществления фармацевтический состав по настоящему изобретению остается стабильным в растворе и пригоден для фармацевтического применения, например, через 3 месяца или 6 месяцев при 40 °С. В других вариантах осуществления фармацевтический состав по настоящему изобретению остается стабильным в растворе и пригоден для фармацевтического применения, например, через 6 месяцев при 5 °С и/или 25 °С. В определенных вариантах осуществления агрегация белка в составе может повышаться не более чем на 3%, 4%, 5%, 6% или 7% через 1 месяц, 2 месяца или 3 месяца хранения при 40 °С. В следующих вариантах осуществления агрегация белка в составе может повышаться не более чем на 3% или 4% через 1 месяц хранения при 40 °С и/или не более чем на 7% через 3 месяца

хранения при 40 °С. В некоторых вариантах осуществления агрегация белка в составе может повышаться не более чем на 2% или 2,5% через 3 месяца хранения при 25 °С. В некоторых вариантах осуществления агрегация белка в составе может повышаться не более чем на 2% через 6 месяцев хранения при 5 °С.

[0151] Помимо агрегатов, в течение хранения в результате химических изменений, таких как дезамидирование и окисление, могут образовываться отличающиеся зарядом варианты белка. Например, в некоторых вариантах осуществления кислотные варианты антитела к FGFR2 не повышаются и не снижаются более чем на 20% через 3 месяца хранения при 25 °С. В некоторых вариантах осуществления изменения процентного содержания отличающихся зарядом вариантов через 6 месяцев хранения при 5 °С отсутствуют. Внешний вид отличающихся зарядом вариантов может быть обнаружен, например, с помощью катион- или анион-обменной хроматографии.

[0152] В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит не более 40% кислотных вариантов антитела к FGFR2 и не более 20% основных вариантов антитела к FGFR2 после хранения в течение 1 месяца при 40 °С. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит от 1% до 40%, от 15% до 40% или от 20% до 40%, от 20% до 30% или от 30% до 40% кислотных вариантов антитела и/или от 5% до 30%, от 5% до 20%, от 10% до 20%, от 20% до 30% или от 15% до 20% основных вариантов антитела через 1 месяц при 40 °С. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит антитело к FGFR2, причем композиция содержит от 15% до 35%, от 20% до 30% или от 25% до 30% кислотных вариантов антитела и/или от 15% до 40%, от 15% до 30%, от 15% до 25%, от 15% до 20% или от 20% до 25% основных вариантов антитела или его антиген-связывающего фрагмента через 3 месяца при 25 °С. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит антитело к FGFR2, причем композиция содержит от 15% до 30%, от 15% до 25%, от 20% до 30% или от 20% до 25% кислотных вариантов антитела и/или от 20% до 35%, от 20% до 30% или от 25% до 30% основных вариантов антитела или его антиген-связывающего фрагмента через 6 месяцев при 5 °С.

[0153] Например, в некоторых вариантах осуществления составы по настоящему изобретению, содержащие гистидин, сахарозу, полисорбат 20 при pH 5,5-6,5, первоначально содержат 20-25% кислотных вариантов антитела к FGFR2, тогда как после хранения в течение 1 месяца при 40 °С содержат от 20% до 40% кислотных вариантов, через 3 месяца хранения при 25 °С содержат от 25% до 30% кислотных вариантов, а через 6 месяцев хранения при 5 °С содержат от 20% до 25% кислотных вариантов. (См. фиг. 27А-С.) В некоторых вариантах осуществления составы по настоящему изобретению, содержащие гистидин, сахарозу, полисорбат 20 при pH 5,5-6,5, первоначально содержат 20-25% кислотных вариантов антитела к FGFR2, тогда как после хранения в течение 1 месяца при 40 °С содержат от 20% до 40% кислотных вариантов, например от 30% до 40%, через 3 месяца хранения при 25 °С содержат от 25% до 30% кислотных вариантов, а через 6 месяцев хранения при 5 °С содержат от 20% до 25% кислотных вариантов. (См.



фиг. 28А-С.) В некоторых вариантах осуществления составы по настоящему изобретению, содержащие гистидин, сахарозу, полисорбат 20 при рН 5,5-6,5, первоначально содержат около 30% основных вариантов антитела к FGFR2, тогда как после хранения в течение 1 месяца при 40 °С содержат от 10% до 25% основных вариантов, через 3 месяца хранения при 25 °С содержат от 15% до 30%, например от 15% до 25% основных вариантов, а через 6 месяцев хранения при 5 °С содержат от 25% до 30% основных вариантов. (См. фиг. 29А-С.) В некоторых вариантах осуществления составы по настоящему изобретению, содержащие гистидин, сахарозу, полисорбат 20 при рН 5,5-6,5, первоначально содержат от 30% до 35% основных вариантов антитела к FGFR2, тогда как после хранения в течение 1 месяца при 40 °С содержат от 10% до 20% основных вариантов, через 3 месяца хранения при 25 °С содержат от 15% до 30%, например от 15% до 25% основных вариантов, а через 6 месяцев хранения при 5 °С содержат от 25% до 30% основных вариантов. (См. фиг. 30А-С.)

[0154] В некоторых вариантах осуществления фармацевтический состав остается стабильным для фармацевтического применения после одного или более циклов замораживания и оттаивания, например после 2, 3, 4 или 5 циклов замораживания и оттаивания, например при -70 °С. Например, в некоторых вариантах осуществления агрегация белка в составе может повышаться не более чем на 2,0%, 1,5%, 1,0% или 0,5% после 5 циклов замораживания и оттаивания. В определенных вариантах осуществления процентное содержание видов белка с высокой молекулярной массой, измеренное посредством рассеяния света, остается неизменным или повышается не более чем на 0,5% после 5 циклов замораживания и оттаивания. В некоторых вариантах осуществления состав также остается стабильным при механическом стрессе, что может быть определено посредством воздействия на флаконы, содержащие состав, перемешивания в течение продолжительного времени. В других вариантах осуществления агрегация может повышаться не более чем на 2,0%, 1,5%, 1,0% или 0,5% через 72 часа механического воздействия при 500 об/мин.

Способы лечения с использованием фармацевтических составов на основе антитела к FGFR2

[0155] Раскрытые в данном документе фармацевтические составы можно применять в способах лечения пациентов, нуждающихся в лечении антителом к FGFR2. Варианты применения антител к FGFR2 раскрыты, например, в Международных публикациях заявок на патент № WO2015/017600 и WO2017/091577, каждая из которых включена в настоящий документ посредством ссылки.

[0156] В некоторых вариантах осуществления фармацевтические составы по настоящему изобретению можно применять для лечения раковых пациентов. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой солидную опухоль. Более конкретные неограничивающие примеры таких видов рака включают плоскоклеточный рак, мелкоклеточный рак легкого, рак гипофиза, рак пищевода, астроцитому, саркому мягких тканей, немелкоклеточный рак легкого (в том числе плоскоклеточный немелкоклеточный

рак легкого), аденокарциному легкого, плоскоклеточную карциному легкого, рак брюшины, гепатоцеллюлярный рак, рак желудочно-кишечного тракта, рак поджелудочной железы, глиобластома, рак шейки матки, рак яичника, рак печени, рак мочевого пузыря, гепатому, рак молочной железы, рак толстой кишки, рак толстой и прямой кишок, карциному эндометрия или матки, карциному слюнной железы, рак почки, почечно-клеточную карциному, рак печени, рак предстательной железы, рак влагалища, рак щитовидной железы, карциному печени, рак головного мозга, рак эндометрия, рак яичка, холангиокарциному, рак желчного пузыря, рак желудка, меланому и различные типы рака головы и шеи (в том числе плоскоклеточную карциному головы и шеи). В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой рак желудка или мочевого пузыря.

[0157] В некоторых вариантах осуществления рак является рецидивирующим или прогрессирующим после терапии, выбранной из хирургии, химиотерапии, лучевой терапии или их комбинации. В некоторых вариантах осуществления субъект имеет неадекватный ответ на ингибитор PD-1/PD-L1. Субъект, который имеет неадекватный ответ на ингибитор PD-1/PD-L1, представляет собой пациента, который, возможно, ранее демонстрировал ответ на ингибитор PD-1/PD-L1, но, возможно, стал менее восприимчивым к ингибитору PD-1/PD-L1, или пациента, который, возможно, никогда демонстрировал ответ на ингибитор PD-1/PD-L1. В некоторых вариантах осуществления субъект ранее получал терапию ингибитором PD-1/PD-L1.

[0158] В некоторых вариантах осуществления рак включает амплификацию гена FGFR2. В некоторых вариантах осуществления рак, включающий амплификацию гена FGFR2, также сверхэкспрессирует FGFR2IIIb. В некоторых вариантах осуществления рак, включающий амплификацию FGFR2, сверхэкспрессирует FGFR2IIIb в большей степени, чем FGFR2IIIc. В некоторых вариантах осуществления рак, включающий амплификацию FGFR2, экспрессирует FGFR2IIIb на нормализованном уровне, который более чем в 2, 3, 5 или 10 раз превышает нормализованный уровень экспрессии FGFR2IIIc. В некоторых вариантах осуществления уровни экспрессии нормализованы относительно GUSB. В некоторых вариантах осуществления рак сверхэкспрессирует FGFR2IIIb, но не включает амплификацию гена FGFR2.

[0159] В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой рак желудка, который включает амплификацию гена FGFR2. В некоторых вариантах осуществления рак желудка, включающий амплификацию гена FGFR2, сверхэкспрессирует FGFR2IIIb. В некоторых вариантах осуществления рак желудка, включающий амплификацию FGFR2, сверхэкспрессирует FGFR2IIIb в большей степени, чем FGFR2IIIc. В некоторых вариантах осуществления рак желудка, включающий амплификацию FGFR2, экспрессирует FGFR2IIIb на нормализованном уровне, который более чем в 2, 3, 5 или 10 раз превышает нормализованный уровень экспрессии FGFR2IIIc. В некоторых вариантах осуществления уровни экспрессии нормализованы относительно GUSB. В некоторых вариантах осуществления рак желудка сверхэкспрессирует FGFR2IIIb, но не включает амплификацию гена FGFR2. В некоторых вариантах осуществления сверхэкспрессия

представляет собой сверхэкспрессию мРНК. В некоторых вариантах осуществления сверхэкспрессия представляет собой сверхэкспрессию белка.

[0160] Амплификация гена FGFR2IIIb может быть определена посредством любого пригодного способа, известного в данной области, включая без ограничения гибридизацию *in situ* (ISH). В некоторых вариантах осуществления амплификация FGFR2 включает соотношение FGFR2:CEN10 (центромера хромосомы 10) > 3.

[0161] Сверхэкспрессия мРНК FGFR2IIIb может быть определена посредством любого пригодного способа, известного в данной области, включая без ограничения способы, включающие количественную ПЦР (кПЦР). Термин «сверхэкспрессия мРНК FGFR2IIIb» означает повышенные уровни мРНК FGFR2IIIb независимо от причины таких повышенных уровней (т.е. являются ли повышенные уровни результатом повышенной транскрипции и/или снижения разрушения мРНК, другого механизма или комбинации механизмов).

[0162] Сверхэкспрессия белка FGFR2IIIb может быть определена посредством любого пригодного способа, известного в данной области, включая без ограничения способы на основе применения антитела, такие как методы иммуногистохимии (ИГХ). В некоторых вариантах осуществления окрашивание ИГХ оценивают в соответствии со способами, известными в данной области. Термин «сверхэкспрессия белка FGFR2IIIb» означает повышенные уровни белка FGFR2IIIb независимо от причины таких высоких уровней (т.е. являются ли повышенные уровни результатом повышенной транскрипции и/или снижения разрушения белка, другого механизма или комбинации механизмов). В некоторых вариантах осуществления окрашивание 1+, 2+ или 3+ опухолевых клеток методом ИГХ указывает на сверхэкспрессию FGFR2IIIb. Например, сверхэкспрессия может быть определена по сигналу ИГХ 1+, 2+ или 3+ по меньшей мере в 10% опухолевых клеток, например в по меньшей мере 20%, 30%, 40% или 50% опухолевых клеток. В некоторых вариантах осуществления окрашивание 2+ или 3+ опухолевых клеток методом ИГХ указывает на сверхэкспрессию FGFR2IIIb. Например, сверхэкспрессия может быть определена по сигналу ИГХ 2+ или 3+ по меньшей мере в 10% опухолевых клеток, например в по меньшей мере 20%, 30%, 40% или 50% опухолевых клеток.

[0163] В некоторых вариантах осуществления на сверхэкспрессию FGFR2 может указывать «показатель Н». Например, в некоторых таких вариантах осуществления опухоль представляет собой опухоль вследствие рака мочевого пузыря. Чтобы определить показатель Н, можно определить первую интенсивность окрашивания мембран для клеток в фиксированном поле, например посредством ИГХ, чтобы получить показатели 0, 1+, 2+ или 3+, и показатель Н можно рассчитать, используя представленную ниже формулу:  $1x$  (% клеток, визуализированных с интенсивностью ИГХ 1+) +  $2x$  (% клеток, визуализированных с интенсивностью ИГХ 2+) +  $3x$  (% клеток, визуализированных с интенсивностью ИГХ 3+). Теоретически, показатель Н может варьироваться от 0 до 300 и быть равным 300, если все клетки в поле зрения имеют окрашивание ИГХ 3+. В некоторых вариантах осуществления пациент, подлежащий лечению, имеет начальный

показатель H для FGFR2, такой как FGFR2b (например, FGFR2IIIb) > 20, такой как > 30, > 40, > 50 или > 100, или в диапазоне 20-300, 20-100, 20-50, 20-40 или 20-30. В некоторых вариантах осуществления пациент имеет показатель H > 10 или он находится в диапазоне 10-20 или 15-20. В других вариантах осуществления пациент имеет показатель H 0-10, что может указывать на недостаточную сверхэкспрессию FGFR2. В некоторых таких вариантах осуществления пациент представляет собой пациента с раком мочевого пузыря.

[0164] В некоторых вариантах осуществления, в которых пациент страдает раком желудка или раком мочевого пузыря, у субъекта может быть ранее определено наличие одного из следующих профилей или, в качестве альтернативы, способ лечения включает определение, соответствует ли пациент одному из следующих профилей в отношении экспрессии/амплификации гена FGFR2, и это может указывать на уровень ожидаемой восприимчивости к лечению: а) в случае субъекта с раком желудка сигнал ИГХ 3+ по меньшей мере у 10% опухолевых клеток; б) в случае субъекта с раком желудка сигнал ИГХ 3+ по меньшей мере у 10% опухолевых клеток, а также амплификация гена FGFR2; в) в случае субъекта с раком желудка сигнал ИГХ 3+ по меньшей мере у 10% опухолевых клеток без амплификации гена FGFR2; д) в случае субъекта с раком желудка сигнал ИГХ 1+ или 2+ по меньшей мере у 10% опухолевых клеток; е) в случае субъекта с раком мочевого пузыря сигнал ИГХ 1+ по меньшей мере у 10% опухолевых клеток; ф) в случае субъекта с раком мочевого пузыря сигнал ИГХ 2+ по меньшей мере у 10% опухолевых клеток; г) в случае субъекта с раком мочевого пузыря показатель H более 20; h) в случае субъекта с раком мочевого пузыря показатель H 10-19; и) в случае субъекта с раком мочевого пузыря показатель H менее 10. В некоторых вариантах осуществления, в которых пациент страдает раком желудка или раком мочевого пузыря, у субъекта может быть ранее определено наличие одного из следующих профилей или, в качестве альтернативы, способ лечения включает определение, соответствует ли пациент одному из следующих профилей в отношении экспрессии/амплификации гена FGFR2, и это может указывать на уровень ожидаемой восприимчивости к лечению: а) в случае субъекта с раком желудка сигнал ИГХ 3+ по меньшей мере у 5% опухолевых клеток; б) в случае субъекта с раком желудка сигнал ИГХ 3+ по меньшей мере у 5% опухолевых клеток, а также амплификация гена FGFR2; в) в случае субъекта с раком желудка сигнал ИГХ 3+ по меньшей мере у 5% опухолевых клеток без амплификации гена FGFR2; д) в случае субъекта с раком желудка сигнал ИГХ 1+ или 2+ по меньшей мере у 5% опухолевых клеток; е) в случае субъекта с раком мочевого пузыря сигнал ИГХ 1+ у меньшей мере в 5% опухолевых клеток; ф) в случае субъекта с раком мочевого пузыря сигнал ИГХ 2+ по меньшей мере у 5% опухолевых клеток; г) в случае субъекта с раком мочевого пузыря показатель H более 20; h) в случае субъекта с раком мочевого пузыря показатель H 10-19; и) в случае субъекта с раком мочевого пузыря показатель H менее 10. В некоторых вариантах осуществления, в которых пациент страдает раком желудка или мочевого пузыря, у субъекта может быть ранее определено наличие одного из следующих профилей или, в качестве альтернативы, способ лечения включает определение, соответствует ли

пациент одному из следующих профилей в отношении экспрессии/амплификации гена FGFR2, и это может указывать на уровень ожидаемой восприимчивости к лечению: а) рак представляет собой рак желудка, который имеет сигнал иммуногистохимического (ИГХ) метода определения FGFR2-IIIb 2+ или 3+ в образце рака; б) рак представляет собой рак желудка, который имеет сигнал ИГХ FGFR2-IIIb 2+ или 3+ в образце рака, и причем ген FGFR2 амплифицирован; в) рак представляет собой рак желудка, который имеет сигнал ИГХ FGFR2-IIIb 2+ или 3+ в образце рака, и причем ген FGFR2 не амплифицирован; или д) рак представляет собой рак мочевого пузыря, который имеет сигнал ИГХ FGFR2-IIIb 2+ или 3+ в образце рака.

[0165] В некоторых вариантах осуществления антитело к FGFR2 можно вводить раковому пациенту в дозировке по меньшей мере 0,1, 0,3, 0,5, 1, 2, 3, 4, 5, 10, 15, 20, 25 или 30 мг/кг, или в пределах диапазона, ограниченного любыми двумя из данных доз. В некоторых вариантах осуществления состав на основе антитела вводят один раз в 1, 2, 3, 4 или 5 недель.

[0166] В некоторых вариантах осуществления фармацевтический состав, содержащий антитело к FGFR2, представлен в виде части комбинации средств, таких как ингибиторы контрольных точек иммунного ответа (иммуностимулирующие средства) и химиотерапевтические средства. Например, антитела к FGFR2 или содержащие их составы могут быть представлены до других способов лечения, по существу одновременно с ними или после них, например хирургического вмешательства, химиотерапии или лучевой терапии. В некоторых вариантах осуществления эффективное количество состава по настоящему изобретению, содержащего антитело к FGFR2, вводят совместно с другим противораковым средством. Неограничивающие иллюстративные противораковые средства, которые можно вводить с антителом к FGFR2, включают препараты на основе платины (например, цисплатин, оксалиплатин и карбоплатин), паклитаксел (ТАКСОЛ®), состав паклитаксела в виде наночастиц, созданных с использованием альбумина (АБРАКСАН®), доцетаксел (ТАКСОТЕР®), гемцитабин (ГЕМЗАР®), капецитабин (КСЕЛОДА®), иринотекан (КАМПТОСАР®), эпирубицин (ЭЛЛЕНС®, ФАРМОРУБИЦИН®), ФОЛФОКС (оксалиплатин, соединенный с 5-ФУ и лейковорином), ФОЛФИРИ (комбинация лейковорина, 5-ФУ и иринотекана), лейковорин, фторурацил (5-ФУ, ЭФУДЕКС®), митомицин С (МИТОЗИТРЕКС™, МУТАМИЦИН®) и доксорубицина гидрохлорид (Адриамицин PFS, Адриамицин RDF, РУБЕКС®). В некоторых вариантах осуществления эффективное количество состава, содержащего антитело к FGFR2, вводят совместно с паклитакселом. В некоторых вариантах осуществления эффективное количество состава на основе антитела к FGFR2 вводят совместно с цисплатином и/или 5-ФУ. В некоторых вариантах осуществления эффективное количество состава на основе антитела к FGFR2 вводят совместно с ФОЛФОКСом (оксалиплатином, 5-ФУ и лейковорином).

[0167] В некоторых вариантах осуществления представлены способы лечения рака, включающие введение эффективного количества фармацевтического состава,

содержащего антитело к FGFR2, и по меньшей мере одного иммуностимулирующего средства. В некоторых других вариантах осуществления представлены способы лечения рака, включающие введение эффективного количества состава, содержащего антитело к FGFR2 и эффективное количество по меньшей мере одного иммуностимулирующего средства. В иллюстративном варианте осуществления по меньшей мере одно иммуностимулирующее средство содержит ингибитор PD-1/PD-L1. В некоторых вариантах осуществления состав, содержащий антитело к FGFR2, и по меньшей мере одно иммуностимулирующее средство, такое как ингибитор PD-1/PD-L1, вводят одновременно. В некоторых вариантах осуществления состав, содержащий антитело к FGFR2, и по меньшей мере одно иммуностимулирующее средство, такое как ингибитор PD-1/PD-L1, вводят последовательно. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одна, по меньшей мере две, по меньшей мере три дозы, по меньшей мере пять доз или по меньшей мере десять доз антитела к FGFR2 вводят до введения по меньшей мере одного иммуностимулирующего средства, такого как ингибитор PD-1/PD-L1. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одну, по меньшей мере две, по меньшей мере три дозы, по меньшей мере пять доз или по меньшей мере десять доз по меньшей мере одного иммуностимулирующего средства, такого как ингибитор PD-1/PD-L1, вводят до введения состава, содержащего антитело к FGFR2. В некоторых вариантах осуществления последнюю дозу по меньшей мере одного иммуностимулирующего средства, такого как ингибитор PD-1/PD-L1, вводят по меньшей мере за один, два, три, пять или десять дней, или за одну, две, три, пять, двенадцать или двадцать четыре недели до первой дозы антитела к FGFR2. В некоторых других вариантах осуществления последнюю дозу антитела к FGFR2 вводят по меньшей мере за один, два, три, пять или десять дней, или за одну, две, три, пять, двенадцать или двадцать четыре недели до первой дозы по меньшей мере одного иммуностимулирующего средства, такого как ингибитор PD-1/PD-L1. В некоторых вариантах осуществления субъект получал или получает терапию с использованием ингибитора PD-1/PD-L1, и к терапевтической схеме добавляют антитело к FGFR2.

#### ПРИМЕРЫ

[0168] Примеры, обсуждаемые ниже, предназначены только для иллюстрации изобретения и не должны рассматриваться в качестве ограничения изобретения каким-либо образом. Были предприняты усилия, чтобы обеспечить точность в отношении используемых чисел (например, количества, температуры и т. д.), но должны учитываться некоторые экспериментальные ошибки и отклонения.

Пример 1. Материалы и способы, применяемые в исследовании составов

##### Получение антител

[0169] Антитела к FGFR2-III $\beta$ , применяемые в следующих примерах, получали в клеточной линии яичника китайского хомячка (CHO), которая не содержит ген FUT8 ( $\alpha$ 1,6-фукозилтрансферазы), и при разработке антител применяли различные партии, которые претерпели изменения в процессах ферментации и очистки. Антитело к FGFR2-

Шв представляет собой афукозилированное гуманизированное моноклональное антитело IgG1. Для определения подходящих композиций, которые обеспечивают максимальную стабильность белка, применяли основанный на знаниях подход к разработке составов. Для этого учитывают как внутренние свойства молекулы, так и внешние компоненты состава, которые могут влиять на стабильность белка. Исследования проводили для определения подходящих компонентов для получения жидкого состава в концентрации 10-20 мг/мл, который может быть разбавлен для в/в инфузии.

[0170] Исходные вещества: L-гистидин (PN H3911), L-гистидин.HCl (PN H5659) и хлорид натрия (PN S9888) получали от компании Sigma Aldrich. L-аргинин.HCl (PN 2067-06), лимонную кислоту (PN 0119), цитрат натрия (PN 3627) и полисорбат 20 (PN 4116) получали от компании JT Baker (Thermo Fischer Scientific).

[0171] Контейнер/укупорка: для наполнения составами применяли стеклянные флаконы на 3 куб. см I типа от компании West Pharmaceutical (PN 68000368) и пробки диаметром 13 мм (PN 19700116) от компании West Pharmaceutical Services, Inc. (PA), полипропиленовые пробирки и стеклянные флаконы для ВЭЖХ.

#### Общая процедура составления

[0172] Составы получали посредством диализа лекарственного вещества в целевые буферы для состава с использованием диализной мембраны с отсечением молекулярной массы (MWC0) 20 кДа. Составы фильтровали в вытяжном шкафу с ламинарным потоком, используя фильтрующие элементы на 0,2 мкм, и заполняли соответствующие системы контейнеров/укупорочных средств для оценки стабильности. Отдельные флаконы извлекали из указанных условий хранения в заранее определенные моменты времени для анализа.

#### Методы анализа

[0173] Образцы на стабильность анализировали с использованием ранее разработанных анализов, описанных ниже.

[0174] Визуальная проверка: визуальную оценку осуществляли на черном/белом фоне при флуоресцентном освещении.

[0175] Концентрация белка: концентрацию белка определяли посредством ультрафиолетового освещения при 280 нм с использованием теоретических коэффициентов поглощения  $1,43 \text{ см}^{-1}[\text{г/л}]-1$ . Образцы разбавляли в пределах линейного диапазона поглощения соответствующим буфером для состава и измеряли относительно водно-солевого раствора с фосфатным буфером Дульбекко (DPBS). Измерения ОП проводили на спектрофотометре Beckman Coulter DU800 UV-Vis (Beckman Coulter, Inc., Калифорния).

[0176] pH: pH буфера определяли с использованием калиброванного pH-метра Beckman Coulter pH560 (Beckman Coulter, Inc., Калифорния).

[0177] Осмоляльность: осмоляльность буфера измеряли посредством давления пара с использованием системы Wescor VAPRO<sup>®</sup> (Wescor, Inc., Юта).

[0178] Анализ с использованием дифференциальной сканирующей калориметрии

(DSC): анализы с использованием высокочувствительной дифференциальной сканирующей калориметрии (HSDSC) осуществляли на VP-DSC (MicroCal, Northampton, Массачусетс). Приблизительно 0,5 мг каждого образца загружали в ячейку для образца с равным количеством подходящего буфера для диализа в эталонной ячейке. Образцы сканировали от 20 до 90 °С или 100 °С со скоростью 1 °С/мин. Данные анализировали с использованием программного обеспечения для анализа данных Origin 7.0 (OriginLab, Массачусетс).

[0179] Ионообменная хроматография (IEX): катионообменная хроматография представляет собой способ отделения вариантов белка в зависимости от их фактического поверхностного заряда. Несмотря на то, что изоэлектрическая точка белка (pI, которая представляет собой pH, при котором белок не имеет суммарного заряда) определяется его первичной аминокислотной последовательностью, суммарный заряд вариантов белка базируется на изоэлектрическом заряде белка и pH подвижного буфера. Например, при pH подвижного буфера равном 7, примерно на одну единицу ниже pI антитела равного 8,4, белок будет нести суммарный положительный заряд и будет электростатически связываться с противоположно и слабо заряженными кислотными карбоксилатными функциональными группами, расположенными на смоле в колонке ProPac WCX-10 с подложкой из поперечносшитого этилвинилбензола-дивинилбензола. С помощью системы высокоэффективной жидкостной хроматографии, оснащенной УФ-детектором при 280 нм, варианты белков разделяли и элюировали из колонки при использовании увеличивающегося солевого градиента, причем варианты с самым слабым ионным взаимодействием начали элюировать первыми, а варианты с более сильным ионным взаимодействием элюируют позже более высокой концентрацией соли. Изоформы последовательно элюировали в трех областях: кислотной, главной формы и основной, где наивысший пик представляет собой пик главной изоформы. На основе площадей пиков в каждой области рассчитывали относительный процент пиков. Метод слабой катионообменной ВЭЖХ осуществляли на колонке Dionex WCX-10 ProPac™ 4 X 250 мм (Thermo Fischer Scientific). Образцы анализировали на ВЭЖХ Agilent серии 1200 и хроматограммы интегрировали с использованием программного обеспечения Chemstation (Agilent Technologies, Калифорния). Подвижная фаза А содержала 10 мМ HEPES при pH 7,0, а подвижная фаза В содержала 10 мМ HEPES, 100 мМ хлорида натрия при pH 7,0. В градиентном методе применяли от 40-90% В в течение 28 минут и УФ-детектирование при 280 нм. Процент кислотных, главного и основных пиков получали из процента общей площади каждого пика, связанного с поглощением.

[0180] Эксклюзионная хроматография (SEC): эксклюзионная хроматография представляет собой способ разделения белков на основе их размера. В данном способе применяют пористую смолу для разделения молекул разного размера. Большие молекулы элюируют раньше, поскольку данные молекулы не могут проникать в поры смолы и беспрепятственно проходят через колонку. Молекулы меньшего размера могут проникать в поры смолы и имеют большую длину пути прохождения через колонку вследствие



извилистости в частицах смолы. Таким образом, молекулы меньшего размера элюируют после молекул большего размера. Для эксклюзионной хроматографии применяли два метода. В первом методе применяли колонку Tosoh G3000SWXL 7,8 X 300 мм с 100 мМ фосфата натрия, 700 мМ аргинина, рН 6,8 в качестве подвижной фазы при 0,5 мл/мин в течение 30 минут (Sigma Aldrich, Inc., Миссури). Во втором способе применяли колонку Sepax Zenix SEC-300 7,8 X 200 мм с 100 мМ фосфатом натрия, 400 мМ хлоридом натрия рН 6,8 в качестве подвижной фазы при 1 мл/мин в течение 12 минут (Sepax Technologies, Inc., Делавэр). Образцы анализировали на ВЭЖХ Agilent серии 1100 и 1200 и хроматограммы интегрировали с использованием программного обеспечения Chemstation с детектированием при 280 нм. Процентное содержание агрегата, пик низкой молекулярной массы (LMW) и главный пик получали из процента общей площади каждого пика, связанного с поглощением.

[0181] Рассеяние света: для измерения поглощения ультрафиолета при 280 нм применяли спектрофотометр (УФ А<sub>280</sub>). Концентрацию образцов антитела рассчитывали по закону Бера,  $A = \epsilon \cdot l \cdot c$  ( $\epsilon$  = коэффициент экстинкции;  $l$  = длина раствора, через которую проходит свет (длина пути кюветы) (см), и  $c$  = концентрация раствора). Для определения концентрации антитела применяли теоретический коэффициент экстинкции (например, теоретический коэффициент экстинкции для антитела к FGFR2 составляет 1,43 (ОП · мл) / (мг · см)). Концентрацию в мг/мл для каждого препарата образца рассчитывали следующим образом: Концентрация = (Поглощение при А<sub>280</sub> - Поглощение при А<sub>350</sub>) X (Коэффициент разбавления) / (Коэффициент экстинкции X Длина пути). Рассчитывали среднее и стандартное отклонение для каждого образца.

#### Пример 2. Растворимость в воде

[0182] Антитело к FGFR2-IIIb концентрировали до приблизительно 100 мг/мл и диализировали в воде. Затем образец дополнительно концентрировали до 180 мг/мл. Антитело к FGFR2-IIIb было растворимо в воде при концентрации 180 мг/мл. Максимальная растворимость не была достигнута.

#### Пример 3. Исходная стабильность при замораживании/оттаивании антитела к FGFR2-IIIb

[0183] Анализ замораживания/оттаивания осуществляли для антитела к FGFR2-IIIb. Антитело концентрировали до 11,6 мг/мл и составляли в 1x PBS при рН 7,4 с 0,01% полисорбата 20 или без него. Полученный раствор разливали во флаконы и подвергали не более чем 3 циклам замораживания/оттаивания от -70 °С до температуры окружающей среды. Флаконы с образцом анализировали посредством визуальной проверки и SE-HPLC. Результаты замораживания/оттаивания показаны в таблице 1. Незначительное повышение содержания агрегатов наблюдали по прошествии 3 циклов замораживания/оттаивания. Результаты позволяют предположить, что 1x PBS приемлем для состава.

Таблица 1. Влияние циклов замораживания/оттаивания на агрегацию антитела к FGFR2-IIIb.

Образец	Пик	Площадь пика (%)
---------	-----	------------------

		<b>Без полисорбата</b>	<b>0,01% полисорбата</b>
		<b>20</b>	<b>20</b>
Контроль 4 °С	Предварительный пик	2,5	2,7
	Главный пик	95,5	96,2
	Пик LMW	1,9	1,0
1х замораживание/ оттаивание	Предварительный пик	2,7	3,0
	Главный пик	96,1	96,2
	Пик LMW	1,2	0,8
2х замораживание/ оттаивание	Предварительный пик	2,9	3,4
	Главный пик	95,1	94,7
	Пик LMW	1,9	1,8
3х замораживание /оттаивание	Предварительный пик	3,0	3,5
	Главный пик	95,1	95,1
	Пик LMW	1,9	1,3

**Пример 4. Исследования окисления антитела к FGFR2-IIIb**

[0184] Антитело к FGFR2-IIIb имеет всего 10 остатков метионина; из них 4 метионина находятся в каждой из тяжелых цепей, и ни один из метионинов не находится в CDR1. Кроме того, в легкой цепи существует один метионин.

[0185] Проводили эксперимент для оценки чувствительности метионинов к окислению посредством инкубации антитела к FGFR2-IIIb с 0,01%, 0,1% или 1,0% перекисью водорода в течение ночи при комнатной температуре. Затем окисленные образцы характеризовали посредством триптического картирования ЖХ/МС для качественного определения степени окисления каждого остатка метионина. Активность окисленных образцов определяли с помощью анализа активности на клетках, и аффинность связывания анализировали с помощью Biacore™ (GE Healthcare). Определение характеристик пептидной карты LC/MS, представленной в таблице 2, показало, что метионин легкой цепи 5 и метионин тяжелой цепи 81 были менее восприимчивы к окислению. Метионины тяжелой цепи 249, 355 и 425 были более чувствительны к окислению. Все окисленные образцы показали эффективность, сравнимую с контролем, что установлено посредством анализа ELISA.

Таблица 2. Относительная чувствительность метиониновых остатков антитела к FGFR2-IIIb к окислению, индуцированному пероксидом, определенная с использованием триптической карты ЖХ/МС (в таблице, L=легкая цепь, M=метионин, H=тяжелая цепь).

Образец	Условие	L M 5	H M81	H M249	H M355	H M425	<b>Активность</b>
							<b>методом ELISA</b>
1	Контроль	0	0	13	0	0	84

2	+ 0,01% H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	0	0	100	26	60	102
3	+ 0,1% H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	0	7	100	65	100	89
4	+ 1,0% H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	0	18	100	100	100	83

[0186] Связывание антитела к FGFR2-IIIb с FGFR2b и белком А измеряли с использованием Вiasore. Окисление метионинов тяжелой цепи не препятствовало связыванию антитела к FGFR2-IIIb с FGFR2b (фиг. 1 и таблица 3). Повышение окисления препятствовало связыванию с белком А. Окислительное разрушение антитела к FGFR2-IIIb не было критическим, учитывая, что активность антитела к FGFR2-IIIb существенно не влияла на значительно окисленные образцы.

Таблица 3. Активность, определенная посредством блокирующей ELISA для образцов, подвергнутых ускоренному окислению

<u>Условие</u>	<u>Номер образца</u>	<u>IC50 (нг/мл)</u>		<u>% активности</u>	
		<u>Исследование</u>	<u>Препарат сравнения</u>	<u>Анализ 1</u>	<u>Анализ 2</u>
Контроль	Образец 1	27,2	21,5	79	89
0,01% H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Образец 2	20,8	20,4	98	106
0,1% H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Образец 3	25,9	20,2	78	100
1,0% H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Образец 4	25,7	18,7	73	93

**Пример 5. Влияние pH буфера на стабильность белка**

[0187] pH состава оказывает негативное влияние на стабильность белка. pH состава может влиять на пути биохимического разрушения, такие как дезамидирование, изомеризация и окисление, а также биофизическое разрушение, например агрегацию и фрагментацию, вследствие взаимодействий между белками и их окружающей средой. pH буфера исследовали в качестве переменной состава, которая может оказывать негативное воздействие на стабильность продукта. Оценивали влияние pH на конформационную стабильность и химическую стабильность антитела к FGFR2-IIIb при хранении. Антитело к FGFR2-IIIb очищали в две стадии и получали 9 различных изотоничных составов

(составы 1-9 в таблице 4) со значением pH в диапазоне от 4,0 до 8,0. Концентрацию белка в буферных обменных растворах доводили до 1 мг/мл, растворы разливали во флаконы для анализа DSC и проводили оценку изотермической стабильности при 40 °С и 25 °С. Оцениваемые составы приведены в таблице 4.

Таблица 4. Составы, оцениваемые в отношении влияния pH на стабильность белка

Идентиф.	Состав	pH	Конц. (мг/мл)
1	20 мМ цитрата Na/лимонной кислоты, 150 мМ NaCl	4,0	1,0
2	20 мМ цитрата Na/лимонной кислоты, 150 мМ NaCl	5,0	1,0
3	20 мМ цитрата Na/лимонной кислоты, 150 мМ NaCl	6,0	1,0
4	20 мМ L-гистидина, 150 мМ L-аргинина	6,0	1,0
5	20 мМ L-гистидина, 150 мМ NaCl	6,0	1,0
6	20 мМ L-гистидина, 150 мМ NaCl	7,0	1,0
7	20 мМ фосфата Na, 150 мМ NaCl	6,0	1,0
8	20 мМ фосфата Na, 150 мМ NaCl	7,0	1,0
9	20 мМ фосфата Na, 150 мМ NaCl	8,0	1,0

**Конформационная стабильность, определенная посредством анализа с использованием дифференциальной сканирующей калориметрии (DSC)**

[0188] Были получены и проанализированы термограммы DSC композиций 1-9 из таблицы 4. Составы 1-3 отмечены \* в таблице 5, а результаты показаны на ФИГ. 2. При нагревании образцов наблюдали три перехода. После перехода разворачивания молекулы IgG образовывали нерастворимые агрегаты и выпадали из раствора в осадок. В таблице 5 показано, что температура разворачивания ( $T_{M1}$ ) повышалась с повышением pH и достигла максимума  $T_{M1}$  примерно при 69 °С при pH 6 и pH 7. Виды буфера не оказали значительного влияния на температуру разворачивания.

Таблица 5. Температура разворачивания образцов антитела к FGFR2-IIIb из скринингового исследования pH

Состав	Буфер	Структурообразующее средство	pH	$T_{M1}$ (°С)	$T_{M2}$ (°С)	$T_{M3}$ (°С)
1*	20 мМ цитрата	150 мМ NaCl	pH 4	52,7	68,5	81,0
2*	20 мМ цитрата	150 мМ NaCl	pH 5	64,7	80,3	87,5
3*	20 мМ цитрата	150 мМ NaCl	pH 6	70,0	81,7	89,2
4	20 мМ гистидина	150 мМ Arg	pH 6	66,8	80,5	88,2
5	20 мМ гистидина	150 мМ NaCl	pH 6	67,6	81,9	87,4

6	20 мМ гистидина	150 мМ NaCl	pH 7	70,8	82,8	87,8
7	20 мМ фосфата	150 мМ NaCl	pH 6	70,5	82,5	87,9
8	20 мМ фосфата	150 мМ NaCl	pH 7	70,6	81,5	88,3
9	20 мМ фосфата	150 мМ NaCl	pH 8	70,3	81,0	88,0

### Изотермическая стабильность

[0189] Влияние pH буфера на образование агрегатов, белков clp (фрагментов) и отличающихся зарядом вариантов оценивали посредством мониторинга стабильности образца в условиях ускоренного хранения при 40 °C и 25 °C.

[0190] Изменения агрегатов и белков clp определяли с использованием SE-HPLC. Иллюстративные хроматограммы SE-HPLC выбранных образцов антитела к FGFR2-Шб для скрининга по pH показаны на ФИГ. 3. Главный пик представляет собой мономер, пики, элюированные раньше, чем мономер, представляют собой агрегаты, а пики, элюированные позже - представляют собой белки clp. Содержание растворимых агрегатов быстро повышается в композиции с pH 4 при 40 °C; умеренное увеличение растворимых агрегатов с увеличением pH наблюдали в буферах с pH 5,0 и pH 8,0. Подобное влияние pH на образование белков clp не наблюдалось.

[0191] Влияние буфера pH на агрегаты (ФИГ. 4) и белки clp (ФИГ. 5) при 40 °C анализировали посредством SE-HPLC. Испытывали составы 1, 2, 3, 7, 8 и 9, приведенные в таблице 5. В пределах испытанного диапазона pH образование белков clp было наиболее значительным при pH 4. При нейтральном pH образование белков clp было незначительным даже после хранения при 40 °C в течение 1 месяца, как показано на ФИГ. 5. Явного повышения содержания агрегатов в составах с pH 5 - pH 8 через по меньшей мере 2 месяца хранения при 25 °C не наблюдалось (ФИГ. 6). Явного повышения содержания белков clp в составах при pH от 5 до 8 через по меньшей мере 2 месяца хранения при 25 °C не наблюдалось (ФИГ. 7).

[0192] Изменение распределения отличающихся зарядом вариантов представляет собой еще один распространенный путь разрушения антител и, как правило, связан с pH буфера для состава. Отличающиеся зарядом варианты антитела к FGFR2-Шб анализировали посредством метода слабой катионообменной ВЭЖХ (WCX-HPLC). Иллюстративная хроматограмма показана на ФИГ. 8. Пики, появляющиеся перед главным пиком, относятся к кислым видам белка, а пики, появляющиеся после главного пика, относятся к основным видам. Увеличение количества кислых видов происходит вследствие дезамидирования аспарагина в молекуле IgG. Смена профиля отличающихся зарядом вариантов резко произошла при 40 °C. Соответственно, изменение профиля зарядов отслеживалось при более низкой температуре, например 25 °C. На ФИГ. 9-11 показано влияние pH буфера на отличающиеся зарядом варианты при 25 °C, что определено с помощью слабой катионообменной высокоэффективной жидкостной хроматографии (WCX-HPLC). Как показано на ФИГ. 9, содержание кислотных видов

быстро повышается в условиях щелочного pH, особенно при pH 8,0. Образцы, полученные в диапазоне pH от 5 до 6, оставались стабильными даже после двух месяцев хранения при 25 °С. На ФИГ. 10 показано воздействие pH на процентное содержание основных вариантов от 0 до 2,5 месяцев хранения при 25 °С. На ФИГ. 11 показано воздействие pH на главный пик от 0 до 2,5 месяцев хранения при 25 °С.

[0193] Результаты скрининговых исследований pH показывают, что в стрессовых условиях хранения стабильность антитела к FGFR2-IIIb в значительной степени зависела от pH состава. При основном pH агрегация и образование кислотных вариантов были основным путем разрушения. Было установлено, что антитело к FGFR2-IIIb наиболее стабильно в диапазоне pH 5,0-6,0.

Пример 6. Влияние вспомогательных веществ на стабильность белка

[0194] Вспомогательные вещества состава, такие как виды буфера и структурообразующие средства, анализировали в отношении их влияния на стабильность продукта. Для оценки влияния вспомогательного вещества на стабильность антитела к FGFR2-IIIb, испытывали различные цитратные, фосфатные и гистидиновые буферы. Семь различных изотоничных растворов, забуференных при pH 6,0, которые были испытаны, приведены в таблице 6.

Таблица 6. Составы, оцениваемые по влиянию вспомогательных веществ на стабильность белка

Номер состава	Состав	pH	Конц. (мг/мл)
1	20 мМ цитрата, 150 мМ аргинина, 0,01% PS20	6,0	20
2	20 мМ фосфата, 150 мМ аргинина, 0,01% PS20	6,0	20
3	20 мМ гистидина, 150 мМ аргинина, 0,01% PS20	6,0	20
4	20 мМ гистидина, 150 мМ хлорида натрия, 0,01% PS20	6,0	20
5	20 мМ гистидина, 150 мМ аргинина, без PS20	6,0	20
6	20 мМ гистидина, 150 мМ аргинина, 0,05% PS20	6,0	20
7	20 мМ гистидина, 150 мМ аргинина, 0,10% PS20	6,0	20

[0195] Концентрации белка доводили до 20 мг/мл, и растворы разливали во флаконы. Составы 1-4 в таблице 6 анализировали с использованием DSC. Физическую стабильность оценивали для всех составов, и оценку изотермической стабильности при 40 °С, 25 °С и 5 °С определяли для составов 1-5.

#### **Конформационная стабильность, определенная посредством анализа DSC**

[0196] Температуры разворачивания различных составов антитела к FGFR2-IIIb определяли посредством анализа DSC, и они обобщены в таблице 7. Осаждение наблюдали во всех составах после нагревания до 90 °С. Поверхностно-активное вещество в составе не защищало антитело от осаждения после денатурации. Как показано в таблице 7, составы имели сопоставимые температуры плавления.

Таблица 7. Температура разворачивания образцов из скрининга вспомогательных веществ, определенная посредством DSC

Состав	Буфер	Структурообразующее средство	Полисорбат 20	pH	T <sub>M1</sub> (°C)	T <sub>M2</sub> (°C)	T <sub>M3</sub> (°C)
1	20 мМ цит.	150 мМ L-arg	0,01%	pH 6	69,4	82,3	88,1
2	20 мМ фос.	150 мМ L-arg	0,01%	pH 6	69,0	82,4	88,1
3	20 мМ His	150 мМ L-arg	0,01%	pH 6	66,9	81,8	87,3
4	20 мМ His	150 мМ NaCl	0,01%	pH 6	68,4	81,3	87,0

[0197] При нагревании различных составов антитела к FGFR2-IIIb были обнаружены три тепловых перехода. Антитело к FGFR2-IIIb начинало разворачиваться при 52,7 °C в составе с pH 4, температура разворачивания (T<sub>m</sub>) повышалась с повышением pH и достигала максимальной T<sub>m1</sub> при температуре около 70 °C при pH 6 и pH 7, и T<sub>m</sub> несколько снижалась при pH 8.

#### Физическая стабильность

[0198] Поскольку фармацевтические препараты на основе белка склонны к агрегации при воздействии сдвигового напряжения, были проведены исследования физической стабильности для оценки влияния вспомогательных веществ на стабильность антитела к FGFR2-IIIb в отношении многократных циклов замораживания/оттаивания и интенсивного перемешивания. Стабильность оценивали с помощью визуального наблюдения, светорассеяния при A350 и SE-HPLC для нерастворимых и растворимых агрегатов. Концентрация антитела в образцах составляла 20 мг/мл.

[0199] Воздействие перемешивания испытывали посредством размещения образцов флаконов горизонтально на орбитальном перемешивающем устройстве и встряхивания образцов со скоростью 500 об/мин в течение 77 часов при комнатной температуре. Для оценки влияния полисорбата 20 на предотвращение образования агрегации, проводили прямое сравнение состава на основе аргинина с 0%, 0,01%, 0,05% и 0,10% полисорбата 20. Как показано в таблице 8 и на ФИГ. 12, явного повышения содержания растворимых агрегатов посредством SE-HPLC во всех составах не было обнаружено.

[0200] Исследование замораживания/оттаивания также проводили посредством замораживания образцов при 70 °C и оттаивания при температуре окружающей среды в течение 5 циклов. Как показано на ФИГ. 13, единственное очевидное изменение наблюдали в растворимом агрегате в составе на основе гистидина/NaCl, которое увеличивалось с увеличением циклов замораживания/оттаивания. Добавление 0,01% полисорбата 20 в состав повышало стабильность антитела к FGFR2-IIIb в отношении

воздействия встряхивания.

Таблица 8. Мутность образцов, подвергшихся сдвиговому напряжению, определенная посредством считывания при А350

Идентиф.	Буфер	Структуро-образующее средство	PS20	Встряхивание со скоростью 500 об/мин		Замораживание/оттаивание (от -70 °С до КТ)	
				Исходное	77 ч	Исходное	5 циклов
1	20 мМ цит.	150 мМ L-arg	0,01%	0,081	0,077	0,077	0,073
2	20 мМ фос.	150 мМ L-arg	0,01%	0,078	0,074	0,070	0,074
3	20 мМ His	150 мМ L-arg	0,01%	0,086	0,087	0,077	0,082
4	20 мМ His	150 мМ NaCl	0,01%	0,084	0,089	0,079	0,087
5	20 мМ His	150 мМ L-arg	0,00%	0,082	0,157	0,077	0,081
6	20 мМ His	150 мМ L-arg	0,05%	0,087	0,086	НО	0,082
7	20 мМ His	150 мМ L-arg	0,10%	0,101	0,090	НО	0,081

### **Изотермическая стабильность**

[0201] Влияние видов буферов и структурообразующих средств на образование агрегатов, белков c1p и отличающихся зарядом вариантов оценивали путем мониторинга стабильности антитела к FGFR2-IIIb в условиях ускоренного хранения при 40 °С, 25 °С и 5 °С. За изменениями в содержании агрегатов и белков c1p следили с использованием SE-NPLC. Испытывали следующие составы: 20 мМ цитрата, 150 мМ L-аргинина и 0,01% полисорбата 20; 20 мМ фосфата, 150 мМ L-аргинина и 0,01% полисорбата 20; 20 мМ гистидина, 150 мМ L-аргинина и 0,01% полисорбата 20; 20 мМ гистидина, 150 мМ NaCl и 0,01% полисорбата 20; и 20 мМ гистидина, 150 мМ L-аргинина, без полисорбата 20.

[0202] Как показано на ФИГ. 14, агрегаты образовывались с более высокой скоростью в составах с цитратом и фосфатом при 40 °С. Незначительная фрагментация наблюдалась во всех составах через 1 месяц хранения при 40 °С. Все составы показали одинаковое повышение агрегации через 3 месяца хранения при 25 °С (ФИГ. 15).

[0203] Вспомогательные вещества состава не влияли на профиль зарядов антитела к FGFR2-IIIb при хранении. Как показано на ФИГ. 16, во всех составах наблюдалось повышение содержания кислотных вариантов. На ФИГ. 17 показано, что наблюдалось



снижение основных вариантов во всех составах с течением времени, и на ФИГ. 18 показано воздействие вспомогательные вещества на главный пик с течением времени.

[0204] На основании исследований стабильности антитела установлено, что L-гистидин не оказал значительного влияния на стабильность антитела среди оцениваемых видов буфера. Цитрат натрия и фосфат натрия не продемонстрировали повышение агрегатов через 1 месяц при 40 °С. Таким образом, L-гистидин обеспечивал большую стабильность, чем цитрат натрия или фосфат натрия; содержание агрегатов повышалось с большей скоростью в составах с цитратом и фосфатом.

[0205] Среди оцениваемых структурообразующих средств NaCl обеспечивает образование агрегатов, вызванное воздействием сильного встряхивания и замораживания/оттаивания. Наиболее стабильный профиль антитела был получен в составе с L-аргинином.

#### Пример 7. Исследование с оценкой pH

[0206] Проверено влияние pH на химическую и физическую стабильности составов. Испытывали следующие составы при pH 5,5, 6,0 и 6,5: (а) 20 мМ гистидина, 150 мМ аргинина, 0,01% полисорбата 20, и (b) 20 мМ гистидина, 270 мМ сахарозы, 0,01% полисорбата 20 (таблица 9). Составы доводили до концентрации 20 мг/мл и разливали в стеклянные флаконы.

Таблица 9. Составы, оцениваемые в узком диапазоне pH

Идентиф.	Состав	pH	Конц. (мг/мл)
1	20 мМ гистидина, 150 мМ аргинина, 0,01% PS20	5,5	20
2	20 мМ гистидина, 150 мМ аргинина, 0,01% PS20	5,7	20
3	20 мМ гистидина, 150 мМ аргинина, 0,01% PS20	6,0	20
4	20 мМ гистидина, 150 мМ аргинина, 0,01% PS20	6,3	20
5	20 мМ гистидина, 150 мМ аргинина, 0,01% PS20	6,5	20
6	20 мМ гистидин, 270 мМ сахароза, 0,01% PS20	5,5	20
7	20 мМ гистидин, 270 мМ сахароза, 0,01% PS20	5,7	20
8	20 мМ гистидин, 270 мМ сахароза, 0,01% PS20	6,0	20
9	20 мМ гистидин, 270 мМ сахароза, 0,01% PS20	6,3	20
10	20 мМ гистидин, 270 мМ сахароза, 0,01% PS20	6,5	20

#### **Влияние pH на физическую стабильность**

[0207] Оценивали стабильность в отношении многократных циклов замораживания/оттаивания и интенсивного перемешивания. Стабильность оценивали с помощью визуального наблюдения, светорассеяния при A350 и SE-HPLC для нерастворимых и растворимых агрегатов.

#### Механическое перемешивание

[0208] Воздействие перемешивания испытывали посредством размещения образцов флаконов горизонтально на орбитальном перемешивающем устройстве и встряхивания

образцов со скоростью 500 об/мин в течение 72 часов при комнатной температуре. Явного повышения содержания растворимых агрегатов с использованием SE-HPLC во всех композициях не было обнаружено. На ФИГ. 19 показано воздействие механического воздействия на агрегацию для составов на основе гистидина/аргинина и гистидина/сахарозы при pH от 5,5 до 6,5 с течением времени (pH 5,5, 6,0 и 6,5). На ФИГ. 19 показано воздействие механического воздействия на белки c1p для составов на основе гистидина/аргинина и гистидина/сахарозы при pH от 5,5 до 6,5. Значительного изменения концентрации или рассеяния света при A350 нм после 72 часов механического перемешивания не наблюдалось (показано в таблице 10).

Таблица 10. Влияние механического перемешивания на концентрацию и рассеяние света при A350 нм

	A350		Концентрация	
	0 часа	72 часа	0 часа	72 часа
His/Arg, pH 5,5	0,082	0,081	19,3	19,8
His/Arg, pH 6,0	0,080	0,083	19,5	19,8
His/Arg, pH 6,5	0,084	0,091	19,7	19,7
His/сахароза, pH 5,5	0,085	0,085	19,6	20,0
His/сахароза, pH 6,0	0,084	0,088	19,5	20,1
His/сахароза, pH 6,5	0,089	0,118	19,8	20,2

Стабильность при замораживании/оттаивании

[0209] Исследование замораживания/оттаивания проводили посредством замораживания образцов при 70 °C и оттаивания при температуре окружающей среды в течение 5 циклов. На ФИГ. 21 и 22 показано влияние замораживания и оттаивания на агрегацию и образование белков c1p для составов с гистидином/аргинином и гистидином/сахарозой при pH от 5,5 до 6,5. На ФИГ. 21 не наблюдалось явного повышения содержания растворимых агрегатов, обнаруженных с использованием SE-HPLC ни в одном из составов с гистидином/аргинином и гистидином/сахарозой при pH от 5,5 до 6,5. На ФИГ. 22 не было обнаружено явного повышения содержания белков c1p с использованием SE-HPLC ни в одном из составов.

[0210] Таблица 11. Влияние замораживания и оттаивания на концентрацию и рассеяние света при A350 нм.

	A350		Концентрация	
	0	Цикл 5	0	Цикл 5
гистидин/аргинин, pH 5,5	0,082	0,087	19,3	19,5
гистидин/аргинин, pH 6,0	0,080	0,089	19,5	20,1
гистидин/аргинин, pH 6,5	0,084	0,084	19,7	19,9
гистидин/сахароза, pH 5,5	0,085	0,085	19,6	19,8

гистидин/сахароза, рН 6,0	0,084	0,091	19,5	20,2
гистидин/сахароза, рН 6,5	0,089	0,090	19,8	20,1

[0211] Концентрация и рассеяние света оставались без изменений после замораживания и оттаивания.

Влияние рН на изотермическую стабильность

[0212] Влияние рН буфера на образование агрегатов, белков сIIP и отличающихся зарядом вариантов оценивали посредством мониторинга стабильности образца в условиях ускоренного хранения при 40 °С, 25 °С и стабильности в режиме реального времени при 5 °С. Испытывали следующие составы: (А) 20 мМ гистидина, 150 мМ аргинина, 0,01% полисорбата 20 («состав на основе гистидина/аргинина»), и (В) 20 мМ гистидина, 150 мМ сахарозы, 0,01% полисорбата 20 («состав на основе гистидина/сахарозы»).

[0213] Агрегация и образование белков сIIP повышались при рН через 1 месяц при 40 °С и через 3 месяца при 25 °С в составах с гистидином/аргинином и гистидином/сахарозой. Состав с гистидином/сахарозой демонстрирует немного меньшую скорость агрегации. Агрегация оставалась без изменений через 6 месяцев при 5 °С, и образование белков сIIP повышалось приблизительно на 1% как в составах с гистидином/аргинином, так и с гистидином/сахарозой.

[0214] Например, на ФИГ. 23А-С показано образование агрегатов в составе на основе гистидина/аргинина для различных условий рН, измеренное по прошествии (А) 1 месяца при 40 °С, (В) 3 месяцев при 25 °С и (С) 6 месяцев при 5 °С. На ФИГ. 24А-С показано образование белков сIIP в составе на основе гистидина/аргинина для различных условий рН (рН 5,5-6,5), измеренное по прошествии (А) 1 месяца при 40 °С, (В) 3 месяцев при 25 °С и (С) 6 месяцев при 5 °С.

[0215] Например, на ФИГ. 25А-С показано образование агрегатов в составе на основе гистидина/сахарозы для различных условий рН, измеренное по прошествии (А) 1 месяца при 40 °С, (В) 3 месяцев при 25 °С и (С) 6 месяцев при 5 °С. На ФИГ. 26А-С показано образование белков сIIP антитела в составе на основе гистидина/сахарозы для различных условий рН (рН 5,5-6,5), измеренное по прошествии (А) 1 месяца при 40 °С, (В) 3 месяцев при 25 °С и (С) 6 месяцев при 5 °С.

[0216] Содержание отличающихся зарядом изоформ также остались неизменным через 6 месяцев при 5 °С. Например, на ФИГ. 27А-С показано, что кислотные варианты в составах с гистидином/сахарозой повышались через (А) 1 месяц при 40 °С, (В) 3 месяца при 25 °С и (С) 6 месяцев при 5 °С.

[0217] Кроме того, на ФИГ. 28А-С показано влияние рН от 5,5 до 6,5 на образование кислотных вариантов в составе на основе гистидина/аргинина, содержащем 20 мМ гистидина, 150 мМ аргинина и 0,01% полисорбата 20. На ФИГ. 28А показано образование кислотных вариантов, указывающее на то, что при рН 5,5-6,0 через 1 месяц при 40 °С % кислотных вариантов в целом сохранял значение менее 40%. На ФИГ. 28В показано образование кислотных вариантов, указывающее на то, что при рН 5,5-6,0 через 3 месяца при 25 °С % кислотных вариантов в целом сохранял значение менее 30,0%. На

ФИГ. 28С показано образование кислотных вариантов, указывающее на то, что при всех значениях рН через 6 месяцев при 5 °С % кислотных вариантов в целом сохранял значение менее 25%. На ФИГ. 29А-С показано влияние рН от 5,5 до 6,5 на образование основных вариантов в составе на основе гистидина/сахарозы, содержащем 20 мМ гистидина, 270 мМ сахарозы и 0,01% полисорбата 20. На ФИГ. 29А показано образование основных вариантов, указывающее на то, что при рН 5,5-6,0 через 1 месяц при 40 °С % основных вариантов оставался в основном в диапазоне от 10% до 20%. На ФИГ. 29В показано образование основных вариантов, указывающее на то, что при рН 5,5-6,0 через 3 месяца при 25 °С % основных вариантов в целом сохранял значение от 20% до 30%. На ФИГ. 29С показано образование основных вариантов, указывающее на то, что при всех значениях рН через 6 месяцев при 5 °С % основных вариантов в целом сохранял значение от 25% до 30%.

[0218] На ФИГ. 30А-С показано влияние рН от 5,5 до 6,5 на образование основного варианта в составе на основе гистидина/аргинина, содержащем 20 мМ гистидина, 150 мМ аргинина и 0,01% полисорбата 20. На ФИГ. 30А показано образование основных вариантов, указывающее на то, что при рН 5,5-6,0 через 1 месяц при 40 °С % основных вариантов оставался в основном в диапазоне от 10% до 20%. На ФИГ. 30В показано образование основных вариантов, указывающее на то, что при рН 5,5-6,0 через 3 месяца при 25 °С % основных вариантов в целом сохранял значение от 15% до 25%. На ФИГ. 30С показано образование основных вариантов, указывающее на то, что при всех значениях рН через 6 месяцев при 5 °С % основных вариантов в целом сохранял значение от 25% до 30%.

[0219] Оба состава, как с гистидином/аргинином, так и гистидином/сахарозой, сохраняли приемлемую стабильность в диапазоне рН от 5,5 до 6,5. В целом состав с гистидином/сахарозой был более стабильным, чем с гистидином/аргинином при рН от 5,5 до 6,0.

[0220] На основании данных о стабильности композиции через 3 месяца при 25 °С и стабильности через 6 месяцев при 5 °С, а также данных других исследований композиций в примерах выше, был разработан жидкий состав, содержащий 20 мг/мл антитела к FGFR2-IIIb, 20 мМ L-гистидина, 270 мМ сахарозы и 0,01% полисорбата 20 при рН 6,0. Также был разработан второй состав, содержащий 20 мг/мл антитела к FGFR2-IIIb, 20 мМ L-гистидина, 150 мМ L-аргинина, 0,01% полисорбата 20 при рН 5,7.

[0221] Объем изобретения не ограничивается описанными в данном документе конкретными вариантами осуществления. Действительно, различные модификации, представленные в данном документе в дополнение к описанным, будут очевидны специалистам в данной области техники из вышеуказанного описания и сопроводительных фигур. Подразумевается, что такие модификации входят в объем прилагаемой формулы изобретения.

[0222] Все ссылки (например, публикации, патенты или патентные заявки), процитированные в настоящем документе, включены в данный документ посредством

ссылки в полном объеме и для всех целей в той же степени, как если бы каждая отдельная ссылка (например, публикация, патент или патентная заявка) была специально и индивидуально указана для включения посредством ссылки в полном объеме и для всех целей.

[0223] Другие варианты осуществления находятся в пределах формулы изобретения, которая представлена ниже.

Таблица последовательностей

[0224] В таблице последовательностей ниже представлены определенные последовательности, раскрытые в данном документе. Все последовательности полипептидов и антитела показаны без лидерных последовательностей, если не указано иное.

Таблица последовательностей и описания

SEQ ID NO	Описание	Последовательность
1	Зрелый FGFR2-IIIb человека	RPSFSLVED TTLEPEEPPT KYQISQPEVY VAAPGESLEV RCLKDAAVI SWTKDGVHLG PNNRTVLIGE YLQIKGATPR DSGLYACTAS RTVDSETWYF MVNVTDAISS GDDEDDTDGA EDFVSENSNN KRAPYWTNTE KMEKRLHAVP AANTVKFRCP AGGNPMPTMR WLKNGKEFKQ EHRIGGYKVR NQHWSLIMES VVPSDKGNVT CVVENEYGSI NHTYHLDVVE RSPHRPILQA GLPANASTVV GGDVEFVCKV YSDAQPHIQW IKHVEKNGSK YGPDGLPYLK VLKHSGINSS NAEVLALFNV TEADAGEYIC KVSNYIGQAN QSAWLTVLPK QQAPGREKEI TASPDYLEIA IYCIGVFLIA CMVVTVILCR MKNTTKKPDF SSQPAVHKLT KRIPLRRQVT VSAESSSSMN SNTPLVRITT RLSSTADTPM LAGVSEYELP EDPKWEFPRD KLTLGKPLGE GCFGQVMAE AVGIDKDKPK EAVTVAVKML KDDATEKDLS DLVSEMEMMK MIGKHKNIN LLGACTQDGP LYVIVEYASK GNLREYLRAR RPPGMEYSYD INRVPEEQMT FKDLVSCTYQ LARGMEYLAS QKCIHRDLAA RNVLV TENNV MKIADFGLAR DINNIDYYKK TTNGRLPVKW MAPEALFDRV YTHQSDVWSF GVLMWEIFTL GGSPYPGIPV EELFKLLKEG HRMDKPANCT NELYMMMRDC WHAVPSQRPT FKQLVEDLDR ILTLTNEEY LDLSQPLEQY SPSYDTRSS CSSGDDSVFS

		PDPMPYEPCL PQYPHINGSV KT
2	Тяжелая цепь $\alpha$ FGFR2b; Asn297 выделен жирным шрифтом и подчеркнут	QVQLVQSGAE VKKPGSSVKV SCKASGYIFT TYNVHWVRQA PGQGLEWIGS IYPDNGDTSY NQNFKGRATI TADKSTSTAY MELSSLRSED TAVYYCARGD FAYWGQGLTV TVSSASTKGP SVFPLAPSSK STSGGTAALG CLVKDYFPEP VTVSWNSGAL TSGVHTFPAV LQSSGLYSLS SVVTVPSSSL GTQTYICNVN HKPSNTKVDK RVEPKSCDKT HTCPPCPAPE LLGGPSVFLF PPKPKDTLMI SRTPEVTCVV VDVSHEDPEV KFNWYVDGVE VHNAKTKPRE EQY <u>N</u> STYRVV SVLTVLHQDW LNGKEYKCKV SNKALPAPIE KTISKAKGQP REPQVYTLPP SREEMTKNQV SLTCLVKGFY PSDIAVEWES NGQPENNYKT TPPVLDSGGS FFLYSKLTVD KSRWQQGNVF SCSVMHEALH NHYTQKSLSL SPGK
3	Легкая цепь $\alpha$ FGFR2b	DIQMTQSPSS LSASVGDRV ITCKASQGV NDVAWYQQKP GKAPKLLIYS ASYRYTGVPS RFSGSGSGTD FTFTISLQP EDIATYYCQQ HSTTPYTFGQ GTKLEIKRTV AAPSVFIFPP SDEQLKSGTA SVVCLLNNFY PREAKVQWKV DNALQSGNSQ ESVTEQDSKD STYLSSTLT LSKADYEKHK VYACEVTHQG LSSPVTKSFN RGEC
4	Вариабель ная область тяжелой цепи $\alpha$ FGFR2b	QVQLVQSGAE VKKPGSSVKV SCKASGYIFT TYNVHWVRQA PGQGLEWIGS IYPDNGDTSY NQNFKGRATI TADKSTSTAY MELSSLRSED TAVYYCARGD FAYWGQGLTV TVSS
5	Вариабель ная область легкой цепи $\alpha$ FGFR2b	DIQMTQSPSS LSASVGDRV ITCKASQGV NDVAWYQQKP GKAPKLLIYS ASYRYTGVPS RFSGSGSGTD FTFTISLQP EDIATYYCQQ HSTTPYTFGQ GTKLEIK
6	HVR1	TYNVH

	тяжелой цепи (HC) αFGFR2b	
7	HVR2 HC αFGFR2b	SIYPDNGDTS YNQNFKG
8	HVR3 HC αFGFR2b	GDFAY
9	HVR1 легкой цепи (LC) αFGFR2b	KASQGVSN DV A
10	HVR2 LC αFGFR2b	SASYRYT
11	HVR3 LC αFGFR2b	QQHSTTPYT
12	Тяжелая цепь αFGFR2b с N297Q; точечная мутация N297Q выделена жирным шрифтом и подчеркнут а	QVQLVQSGAE VKKPGSSVKV SCKASGYIFT TYNVHWVRQA PGQGLEWIGS IYPDNGDTSY NQNFKGRATI TADKSTSTAY MELSSLRSED TAVYYCARGD FAYWGQGLTV TVSSASTKGP SVFPLAPSSK STSGGTAALG CLVKDYFPEP VTVSWNSGAL TSGVHTFPAV LQSSGLYSLS SVVTVPSSSL GTQTYICNVN HKPSNTKVDK RVEPKSCDKT HTCPPCPAPE LLGGPSVFLF PPKPKDTLMI SRTPEVTCVV VDVSHEDPEV KFNWYVDGVE VHNAKTKPRE EQY <u>Q</u> STYRVV SVLTVLHQDW LNGKEYKCKV SNKALPAPIE KTISKAKGQP REPQVYTLPP SREEMTKNQV SLTCLVKGFY PSDIAVEWES NGQPENNYKT TPPVLDSDGS FFLYSKLTVD KSRWQQGNVF SCSVMHEALH NHYTQKSLSL SPGK
13	Зрелый FGFR2-IIIc человека	RPSFSLVED TTLEPEEPPT KYQISQPEVY VAAPGESLEV RCLLKDAAVI SWTKDGVHLG PNNRTVLIGE YLQIKGATPR DSGLYACTAS RTVDSETWYF MVNVTDAISS GDDEDDTDGA EDFVSENSNN KRAPYWTNTE

		<p>KMEKRLHAVP AANTVKFRCP AGGNPMPTMR  WLKNGKEFKQ EHRIGGYKVR NQHWSLIMES  VVPSDKGNYT CVVENEYGSI NHTYHLDVVE RSPHRPILQA  GLPANASTVV GGDVEFVCKV YSDAQPHIQW  IKHVEKNGSK YGPDGLPYLK VLKAAGVNTT DKEIEVLYIR  NVTFEDAGEY TCLAGNSIGI SFHSAWLTVL PAPGREKEIT  ASPDYLEIAI YCIGVFLIAC MVVTVILCRM KNTTKKPDFS  SQPAVHKLTK RIPLRRQVTV SAESSSSMNS NTPLVRITTR  LSSTADTPML AGVSEYELPE DPKWEFPRDK LTLGKPLGEG  CFGQVMAEA VGIDKDKPKE AVTVAVKMLK  DDATEKDLSD LVSEMEMMKM IGKHKNIINL  LGACTQDGPL YVIVEYASKG NLREYLRARR PPGMEYSYDI  NRVPEEQMTF KDLVSCTYQL ARGMEYLASQ  KCIHRDLAAR NVLVTENNVM KIADFGLARD INNIDYYKKT  TNGRLPVKWM APEALFDRVY THQSDVWSFG  VLMWEIFTLG GSPYPGIPVE ELFKLLKEGH RMDKPANCTN  ELYMMMRDCW HAVPSQRPTF KQLVEDLDRI  LTLTTNEEYL DLSQPLEQYS PSYPDTRSSC SSGDDSVFSP  DPMPYEPCLP QYPHINGSVK T</p>
14	ECD FGFR2	<p>RPSFSLVED TTLEPEEPPT KYQISQPEVY VAAPGESLEV  RCLKDAAVI SWTKDGVHLG PNNRTVLIGE YLQIKGATPR  DSGLYACTAS RTVDSETWYF MVNVTDAISS  GDDEDDTDGA EDFVSENSNN KRAPYWTNTE  KMEKRLHAVP AANTVKFRCP AGGNPMPTMR  WLKNGKEFKQ EHRIGGYKVR NQHWSLIMES  VVPSDKGNYT CVVENEYGSI NHTYHLDVVE RSPHRPILQA  GLPANASTVV GGDVEFVCKV YSDAQPHIQW  IKHVEKNGSK YGPDGLPYLK VLKAAGVNTT DKEIEVLYIR  NVTFEDAGEY TCLAGNSIGI SFHSAWLTVL PAPGREKEIT  ASPDYLE</p>
15	Вариабель ная область тяжелой	<p>QVQLKQSGPG LVQPSQSLSI TCTVSGFSLT SFGVHWVRQS  PGKGLEWLGV IWSGGSTDYN ADFRSRLSIS KDNSKSQIFF  KMNSLQPDDT IAYCANFYYG YDDYVMDYWG  QGTSVTVSS</p>



	цепи Gal- FR22 анти- FGFR2	
16	CDR1 тяжелой цепи Gal- FR22 анти- FGFR2	SFGVH
17	CDR2 тяжелой цепи Gal- FR22 анти- FGFR2	VIWSGGSTDYNADFRS
18	CDR3 тяжелой цепи Gal- FR22 анти- FGFR2	FYYGYDDYVMDY
19	Вариабель ная область легкой цепи Gal- FR22 анти- FGFR2	DIQMTQSPSS LSASLGGRVT ITCKASQDIK NYIAWYQHKP GKSPRLLIHY TSTLQPGVPS RFSGSGSGRD YSFSISNLEP EDIATYYCLQ YDDDLYMFGG GTKLDIK
20	CDR1 легкой цепи Gal- FR22 анти- FGFR2	KASQDIKNYIA
21	CDR2 легкой цепи Gal-	YTSTLQP

	FR22 анти- FGFR2	
22	CDR3 легкой цепи Gal- FR22 анти- FGFR2	LQYDDL YM

## ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Фармацевтический состав, содержащий:

- i) 10-30 мг/мл антитела к рецептору 2 фактора роста фибробластов (FGFR2);
  - ii) 5-40 мМ буфера, выбранного из одного или более из гистидинового, цитратного или фосфатного буфера;
  - iii) 130-170 мМ аргинина или 250-290 мМ сахарозы; и
  - iv) 0,002%-0,1% полисорбата 20 или полисорбата 80;
- причем состав имеет рН 5,0-6,5, и при этом антитело к FGFR2 выбрано из:
- a) антитела, содержащего тяжелую цепь, содержащую последовательность SEQ ID NO: 2, и легкую цепь, содержащую последовательность SEQ ID NO: 3;
  - b) антитела, содержащего тяжелую цепь, содержащую гипервариабельную область 1 (HVR1) тяжелой цепи (HC), содержащую последовательность SEQ ID NO: 6, HVR2 HC, содержащую последовательность SEQ ID NO: 7, и HVR3 HC, содержащую последовательность SEQ ID NO: 8, и легкую цепь, содержащую HVR1 легкой цепи (LC), содержащую последовательность SEQ ID NO: 9, HVR2 LC, содержащую последовательность SEQ ID NO: 10, и HVR3 LC, содержащую последовательность SEQ ID NO: 11; и
  - c) антитела, содержащего тяжелую цепь, содержащую последовательность вариабельной области, содержащую последовательность SEQ ID NO: 4, и легкую цепь, содержащую последовательность вариабельной области легкой цепи, содержащую последовательность SEQ ID NO: 5.

2. Фармацевтический состав по п. 1, причем состав характеризуется одним или более из следующих свойств:

- (a) представляет собой готовый к применению жидкий состав; (b) не лиофилизирован перед введением пациенту; (c) содержится в одноразовом флаконе; (d) агрегация белка в составе повышается не более чем на 2,0% через 6 месяцев хранения при 5 °С;
- (e) агрегация белка в составе повышается не более чем на 2,0% или 2,5% через 3 месяца хранения при 25 °С;
- (f) агрегация белка в составе повышается не более чем на 7,0% через 3 месяца хранения при 40 °С;
- (g) отличающиеся зарядом варианты белка в составе не изменяются более чем на 5% через 6 месяцев хранения при 5 °С; (h) агрегация белка в составе повышается не более чем на 2,0% после 5 циклов замораживания и оттаивания при -70 °С;
- (i) агрегация белка в составе повышается не более чем на 2,0% через 72 часа механического воздействия при 500 об/мин;
- (j) разведен в солевом растворе перед внутривенным введением;
- (k) вводится внутривенно (например посредством внутривенной инфузии); и (l) изотоничен плазме человека.

3. Фармацевтический состав по п. 1 или п. 2, причем состав содержит 10-15 мг/мл,

15-20 мг/мл, 20-25 мг/мл, 18-22 мг/мл, 10 мг/мл, 11 мг/мл, 12 мг/мл, 13 мг/мл, 14 мг/мл, 15 мг/мл, 16 мг/мл, 17 мг/мл, 18 мг/мл, 19 мг/мл, 20 мг/мл, 21 мг/мл, 22 мг/мл, 23 мг/мл, 24 мг/мл или 25 мг/мл антитела к FGFR2.

4. Фармацевтический состав по любому из пп. 1-3, причем состав содержит 10-40 мМ, 10-30 мМ, 15-25 мМ, 10-20 мМ, 20-30 мМ, 18-22 мМ, 10 мМ, 15 мМ, 16 мМ, 17 мМ, 18 мМ, 19 мМ, 20 мМ, 21 мМ, 22 мМ, 23 мМ, 24 мМ, 25 мМ, 26 мМ, 27 мМ, 28 мМ, 29 мМ или 30 мМ буфера.

5. Фармацевтический состав по п. 4, причем буфер представляет собой гистидиновый буфер.

6. Фармацевтический состав по любому из пп. 1-5, причем состав содержит 130-150 мМ, 150-170 мМ, 140-160 мМ, 130 мМ, 135 мМ, 140 мМ, 145 мМ, 150 мМ, 155 мМ, 160 мМ, 165 мМ или 170 мМ аргинина.

7. Фармацевтический состав по п. 6, причем состав не содержит сахарозу.

8. Фармацевтический состав по п. 6 или 7, причем рН состава составляет 5,0-7,0, 5,0-6,0, 5,5-6,0, 5,5-6,5, 5,5-5,9, 5,6-5,8, 5,0, 5,1, 5,2, 5,3, 5,4, 5,5, 5,6, 5,7, 5,8, 5,9, 6,0, 6,1, 6,2, 6,3, 6,4 или 6,5.

9. Фармацевтический состав по п. 8, причем рН состава составляет 5,5-5,9, 5,6-5,8, 5,6, 5,7, 5,8, 5,9 или 6,0.

10. Фармацевтический состав по любому из пп. 1-5, причем состав содержит 260-280 мМ, 250 мМ, 260 мМ, 270 мМ, 280 мМ, 290 мМ сахарозы.

11. Фармацевтический состав по п. 8, причем состав не содержит аргинин.

12. Фармацевтический состав по п. 10 или 11, причем рН состава составляет 5,0-7,0, 5,0-6,0, 5,5-6,0, 5,5-5,9, 5,6-5,8, 5,0, 5,1, 5,2, 5,3, 5,4, 5,5, 5,6, 5,7, 5,8, 5,9, 6,0, 6,1, 6,2, 6,3, 6,4 или 6,5.

13. Фармацевтический состав по п. 12, причем рН состава составляет 5,8-6,2, 5,9-6,1, 5,9, 6,0 или 6,1.

14. Фармацевтический состав по любому из пп. 1-13, причем состав содержит 0,01-0,1%, 0,005-0,05%, 0,002%, 0,003%, 0,004%, 0,005%, 0,006%, 0,007%, 0,008%, 0,009%, 0,01%, 0,02%, 0,03%, 0,04%, 0,05%, 0,06%, 0,07%, 0,08%, 0,09% или 0,1% полисорбата 20 или 80.

15. Фармацевтический состав по п. 14, причем состав содержит 0,01-0,1%, 0,005-0,05%, 0,002%, 0,003%, 0,004%, 0,005%, 0,006%, 0,007%, 0,008%, 0,009%, 0,01%, 0,02%, 0,03%, 0,04%, 0,05%, 0,06%, 0,07%, 0,08%, 0,09% или 0,1% полисорбата 20.

16. Фармацевтический состав по любому из пп. 1-15, причем состав по существу состоит из антитела к FGFR2; цитратного, фосфатного или гистидинового буфера; аргинина или сахарозы; и полисорбата 20 или 80.

17. Фармацевтический состав по п. 16, причем состав по существу состоит из антитела к FGFR2, гистидина, аргинина или сахарозы и полисорбата 20.

18. Фармацевтический состав антитела к рецептору 2 фактора роста фибробластов (FGFR2), причем состав представляет собой жидкий состав, который не был

лиофилизирован перед применением, содержащий:

- i) 10-25 мг/мл антитела к FGFR2;
  - ii) 10-30 мМ гистидинового буфера;
  - iii) 140-160 мМ аргинина; и
  - iv) от 0,005% до 0,05% полисорбата 20;
- при этом состав имеет рН от 5,6 до 5,8.

19. Фармацевтический состав антитела к рецептору 2 фактора роста фибробластов (FGFR2), причем состав представляет собой жидкий состав, который не был лиофилизирован перед применением, содержащий:

- 10-25 мг/мл антитела к FGFR2;
  - ii) 20 мМ гистидинового буфера;
  - iii) 150 мМ аргинина; и
  - iv) 0,01% полисорбата 20;
- при этом состав имеет рН 5,7.

20. Фармацевтический состав антитела к рецептору 2 фактора роста фибробластов (FGFR2), содержащий:

- i) 20 мг/мл антитела к FGFR2;
- ii) 20 мМ L-гистидинового буфера;
- iii) 150 мМ L-аргинина;
- iv) 0,01% полисорбата 20,

при этом состав имеет рН 5,7 и представляет собой жидкий состав, который не был лиофилизирован перед применением.

21. Фармацевтический состав по п. 18, 19 или 20, причем состав по существу состоит из антитела к FGFR2, гистидина, аргинина и полисорбата 20.

22. Фармацевтический состав антитела к рецептору 2 фактора роста фибробластов (FGFR2), причем состав представляет собой жидкий состав, который не был лиофилизирован перед применением, содержащий:

- i) 10-25 мг/мл антитела к FGFR2;
  - ii) 10-30 мМ гистидинового буфера;
  - iii) 260-280 мМ сахарозы; и
  - iv) от 0,005% до 0,05% полисорбата 20;
- при этом состав имеет рН от 5,8 до 6,2.

23. Фармацевтический состав антитела к рецептору 2 фактора роста фибробластов (FGFR2), причем состав представляет собой жидкий состав, который не был лиофилизирован перед применением, содержащий:

- i) 10-25 мг/мл антитела к FGFR2;
  - ii) 20 мМ гистидинового буфера;
  - iii) 270 мМ сахарозы; и
  - iv) 0,01% полисорбата 20;
- при этом состав имеет рН 6,0.

24. Фармацевтический состав антитела к рецептору 2 фактора роста фибробластов (FGFR2), содержащий:

- i) 20 мг/мл антитела к FGFR2;
- ii) 20 мМ L-гистидинового буфера;
- iii) 270 мМ сахарозы; и
- iv) 0,01% полисорбата 20,

при этом состав имеет pH 6,0 и представляет собой жидкий состав, который не был лиофилизирован перед применением.

25. Фармацевтический состав по п. 22, 23 или 24, причем состав по существу состоит из антитела к FGFR2, гистидина, сахарозы и полисорбата 20.

26. Фармацевтический состав по любому из пп. 18-25, причем антитело к FGFR2 выбрано из:

а) антитела, содержащего тяжелую цепь, содержащую последовательность SEQ ID NO: 2, и легкую цепь, содержащую последовательность SEQ ID NO: 3;

б) антитела, содержащего тяжелую цепь, содержащую гипервариабельную область 1 (HVR1) тяжелой цепи (HC), содержащую последовательность SEQ ID NO: 6, HVR2 HC, содержащую последовательность SEQ ID NO: 7, и HVR3 HC, содержащую последовательность SEQ ID NO: 8, и легкую цепь, содержащую HVR1 легкой цепи (LC), содержащую последовательность SEQ ID NO: 9, HVR2 LC, содержащую последовательность SEQ ID NO: 10, и HVR3 LC, содержащую последовательность SEQ ID NO: 11; и

с) антитела, содержащего тяжелую цепь, содержащую последовательность вариабельной области, содержащую последовательность SEQ ID NO: 4, и легкую цепь, содержащую последовательность вариабельной области легкой цепи, содержащую последовательность SEQ ID NO: 5.

27. Фармацевтический состав по любому из пп. 18-26, причем состав характеризуется одним или более из следующих свойств: (а) содержится в одноразовом флаконе; (б) агрегация белка в составе повышается не более чем на 2,0% через 6 месяцев хранения при 5 °С;

(с) агрегация белка в составе повышается не более чем на 2,0% или 2,5% через 3 месяца хранения при 25 °С;

(d) агрегация белка в составе повышается не более чем на 7,0% через 3 месяца хранения при 40 °С;

(е) отличающиеся зарядом варианты белка в составе не изменяются более чем на 5% через 6 месяцев хранения при 5 °С; (f) агрегация белка в составе повышается не более чем на 2,0% после 5 циклов замораживания и оттаивания при -70 °С;

(g) агрегация белка в составе повышается не более чем на 2,0% через 72 часа механического воздействия при 500 об/мин;

(h) разведен в солевом растворе перед внутривенным введением;

(i) вводится внутривенно (например посредством в/в инфузии); и (j) изотоничен

плазме человека.

28. Фармацевтический состав по любому из пп. 18-19, 21-23 или 25-27, причем состав содержит 10-15 мг/мл, 15-20 мг/мл, 20-25 мг/мл, 18-22 мг/мл, 10 мг/мл, 11 мг/мл, 12 мг/мл, 13 мг/мл, 14 мг/мл, 15 мг/мл, 16 мг/мл, 17 мг/мл, 18 мг/мл, 19 мг/мл, 20 мг/мл, 21 мг/мл, 22 мг/мл, 23 мг/мл, 24 мг/мл или 25 мг/мл антитела к FGFR2.

29. Фармацевтический состав по любому из пп. 1-28, причем состав не содержит одно или более из следующего: сахара, отличные от сахарозы, сахарные спирты, виды белка, отличные от антитела к FGFR2, поверхностно-активные вещества, отличные от полисорбата 20 или полисорбата 80, аминокислоты, отличные от аргинина и гистидина,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$  и  $\text{Mn}^{2+}$ .

30. Фармацевтический состав по любому из пп. 1-29, причем состав содержится в одноразовых флаконах.

31. Способ лечения солидной опухоли у пациента, нуждающегося в этом, включающий введение такому пациенту эффективного количества состава по любому из пп. 1-30.

32. Способ по п. 31, в котором состав вводят пациенту внутривенно (например, посредством внутривенной инфузии).

33. Фармацевтический состав или способ по любому из пп. 1-32, в котором антитело к FGFR2 афукозилировано.

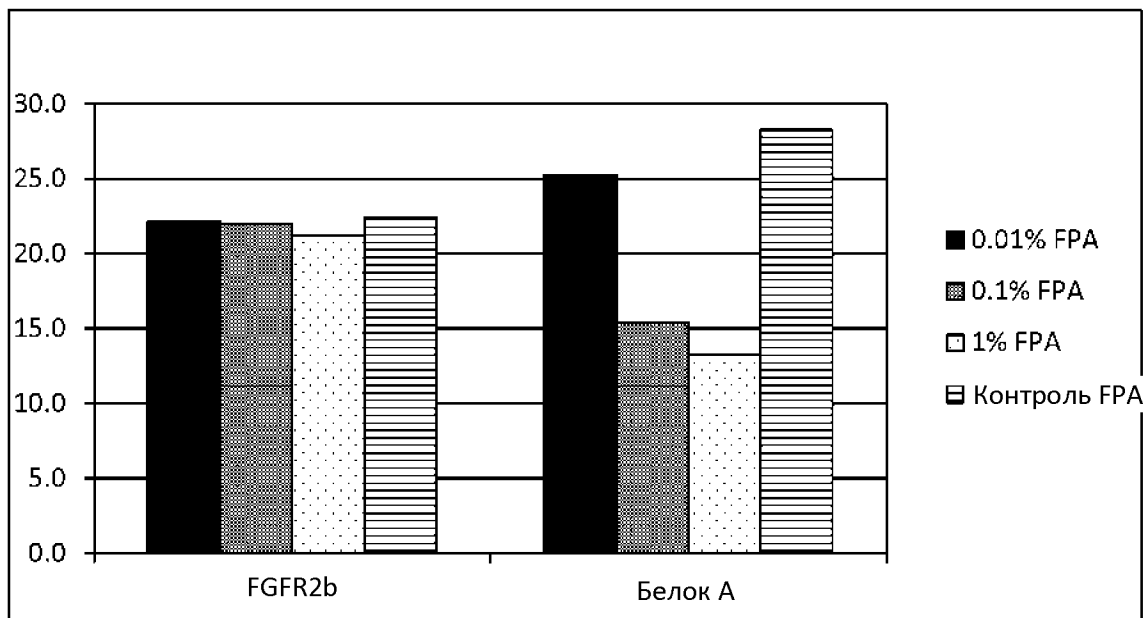
34. Фармацевтический состав или способ по любому из пп. 1-32, в котором антитело к FGFR2 представляет собой антиген-связывающий фрагмент, например Fv, одноцепочечный Fv (scFv), Fab, Fab' или (Fab')<sub>2</sub>.

35. Фармацевтический состав или способ по любому из пп. 1-34, в котором антитело является химерным, гуманизированным или человеческим.

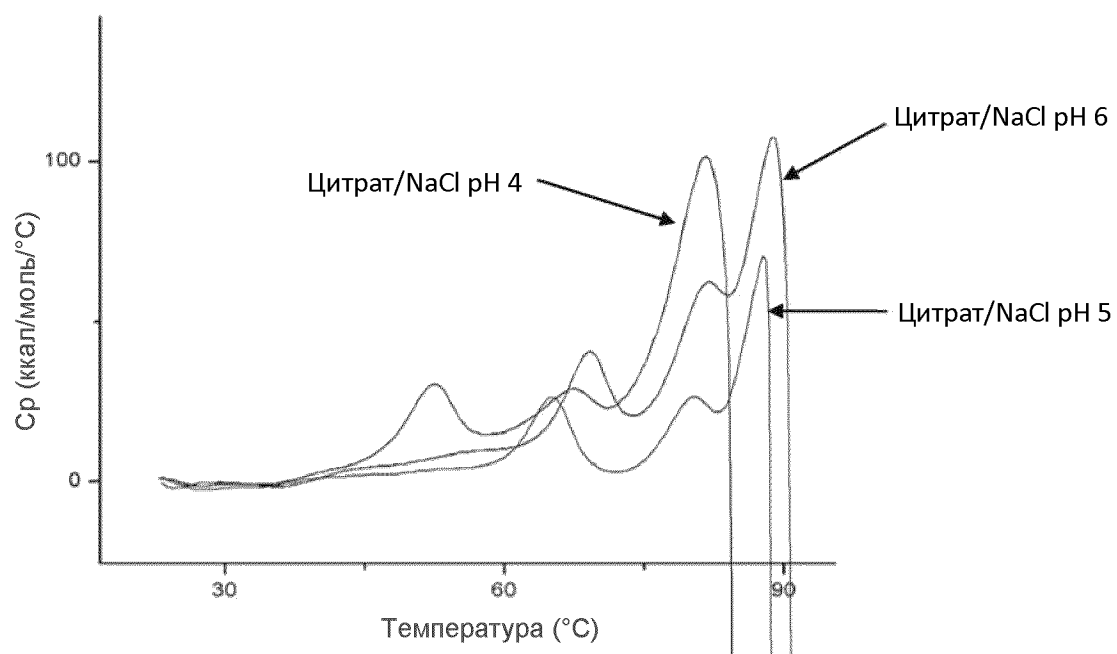
36. Фармацевтический состав или способ по любому из пп. 1-35, в котором антитело является биспецифическим, мультиспецифическим или конъюгированным.

По доверенности

1/19

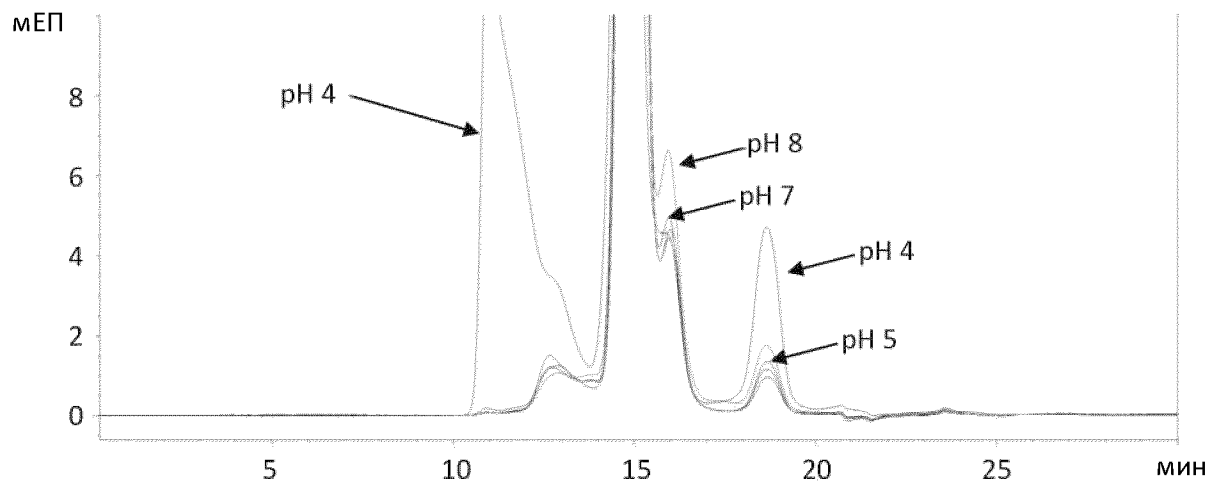


ФИГ. 1

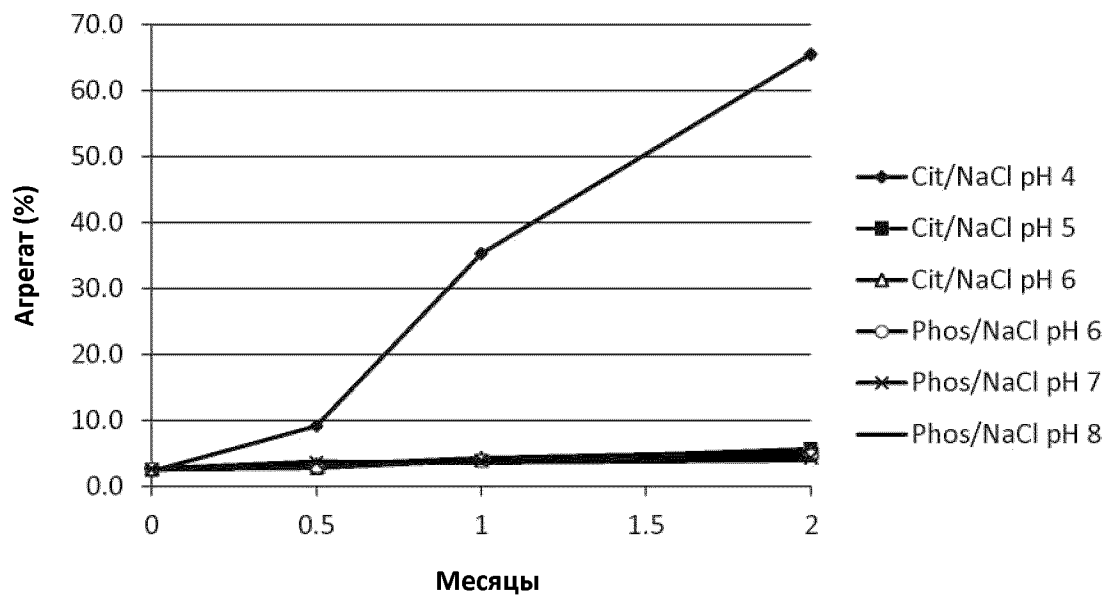


ФИГ. 2

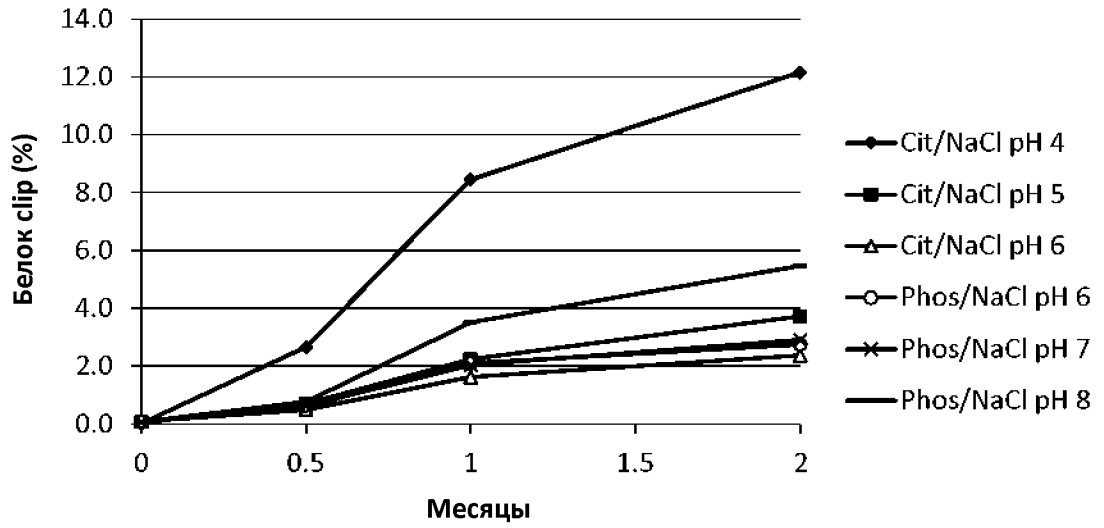




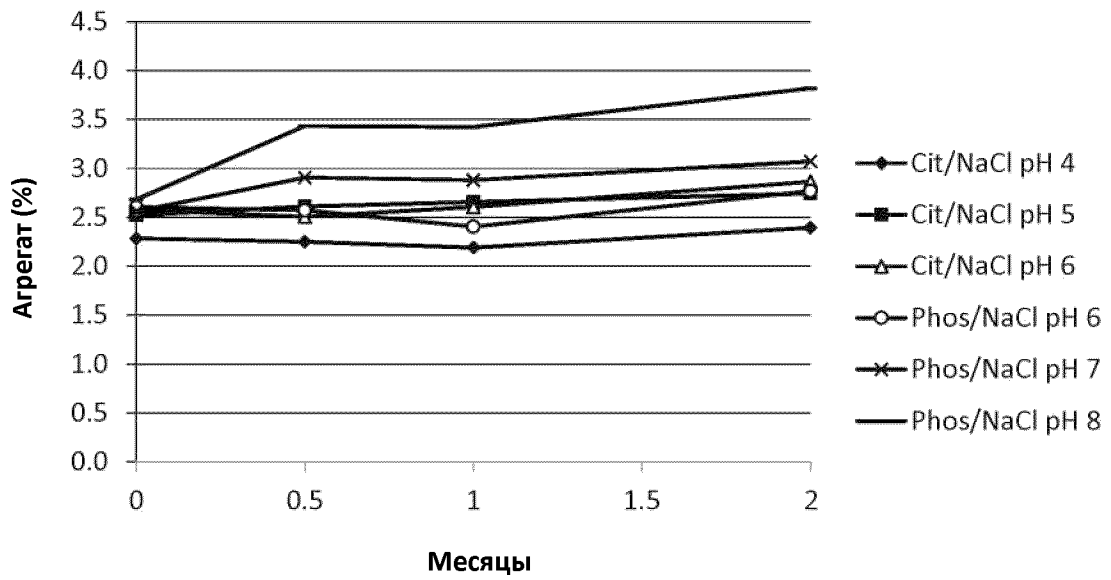
ФИГ. 3



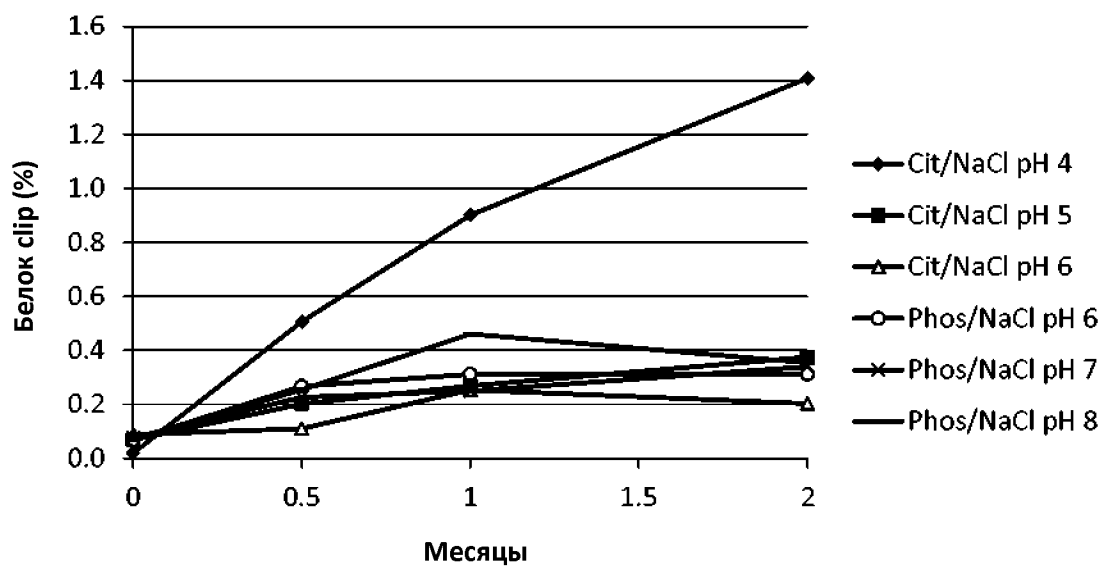
ФИГ. 4



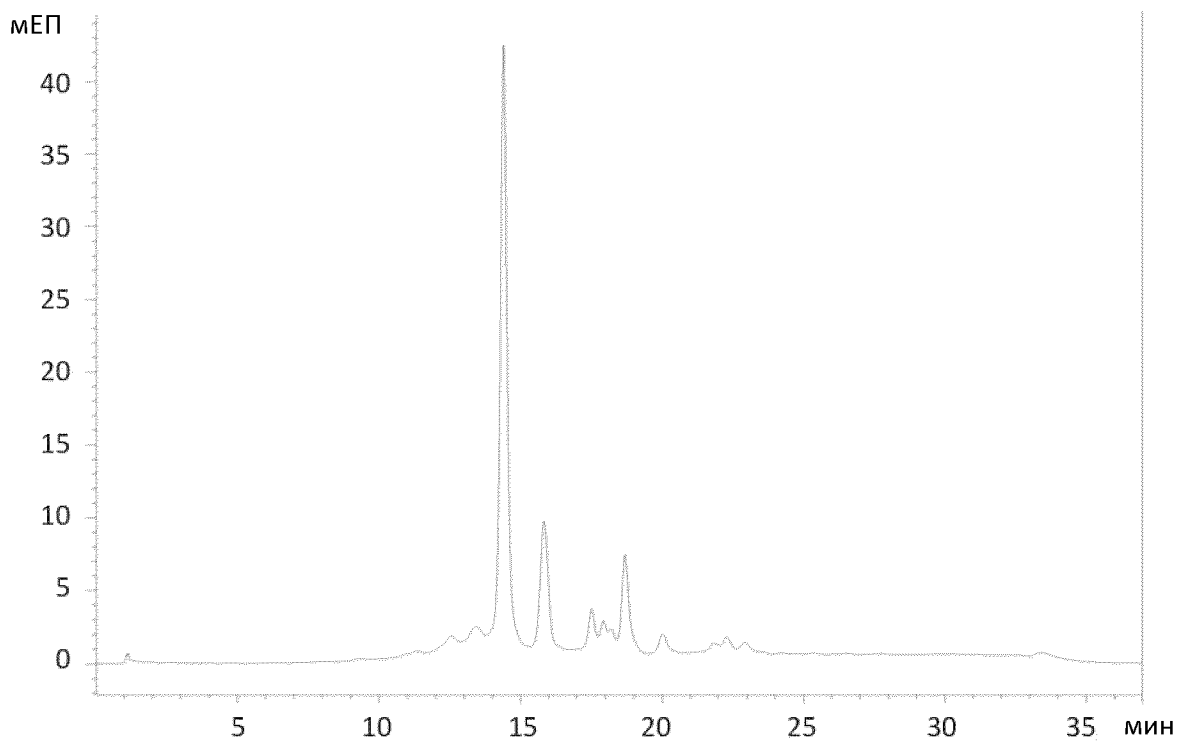
ФИГ. 5



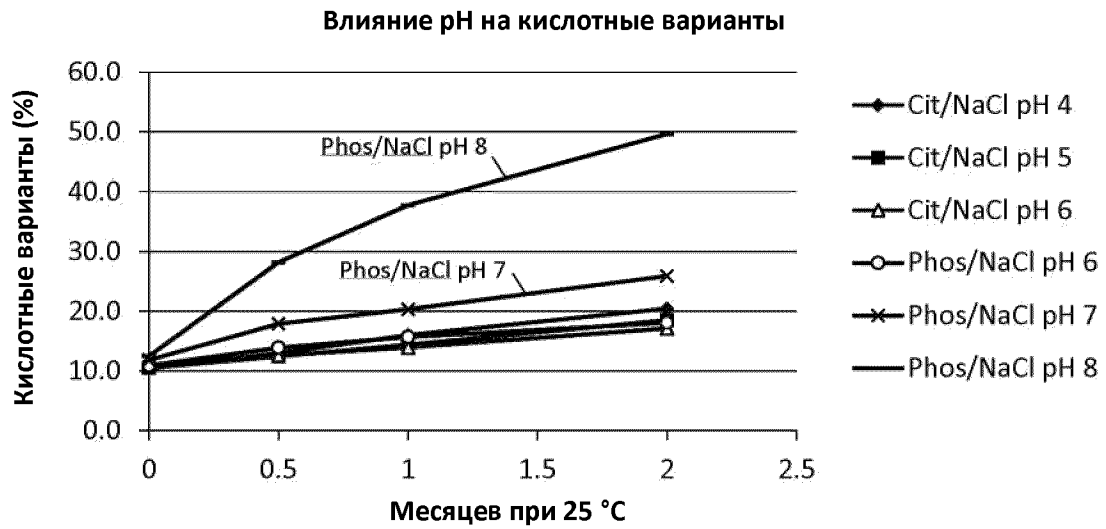
ФИГ. 6



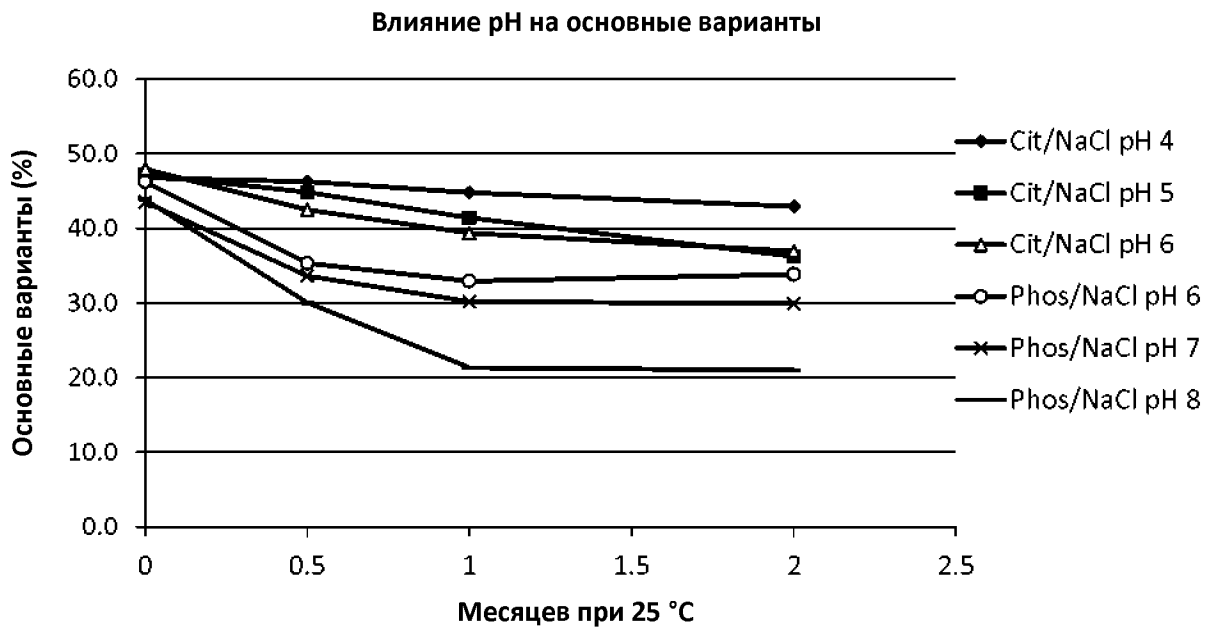
ФИГ. 7



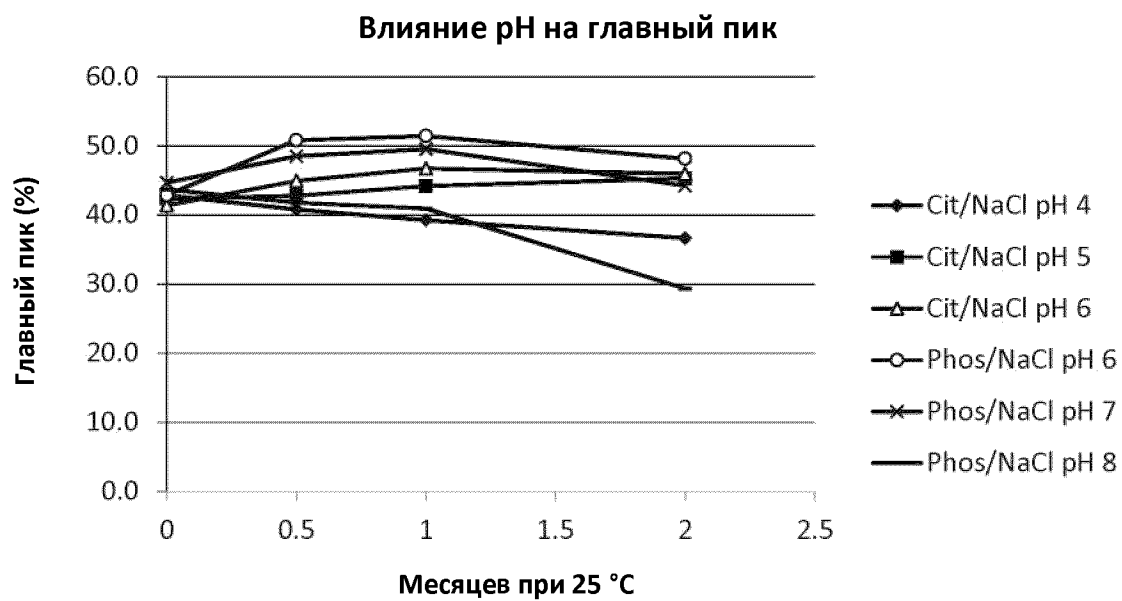
ФИГ. 8



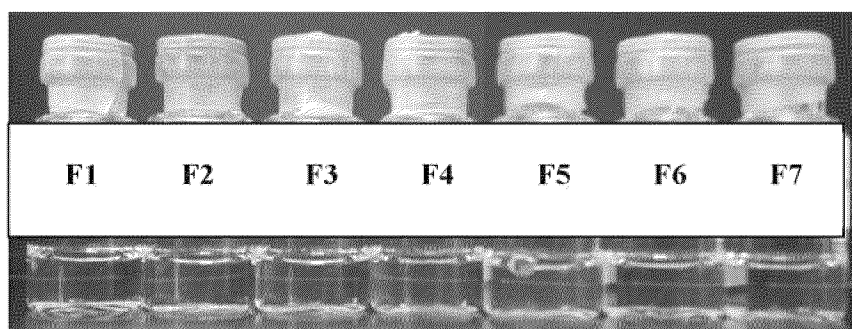
ФИГ. 9



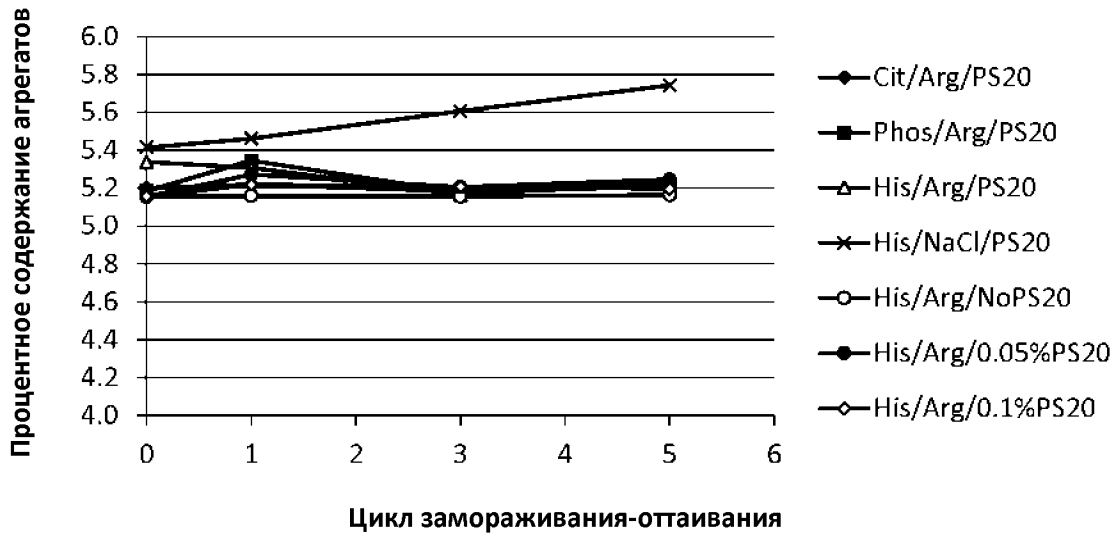
ФИГ. 10



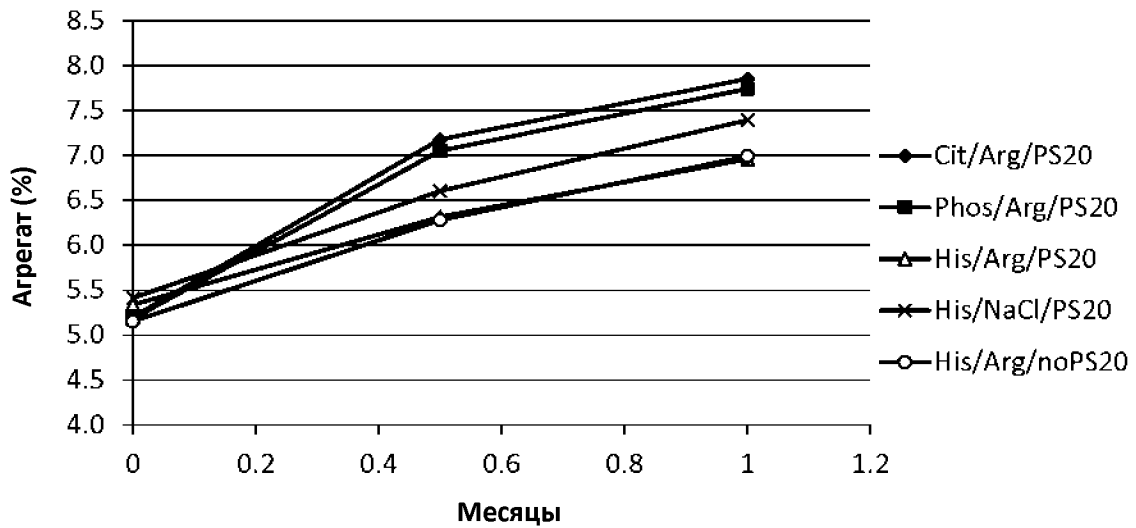
ФИГ. 11



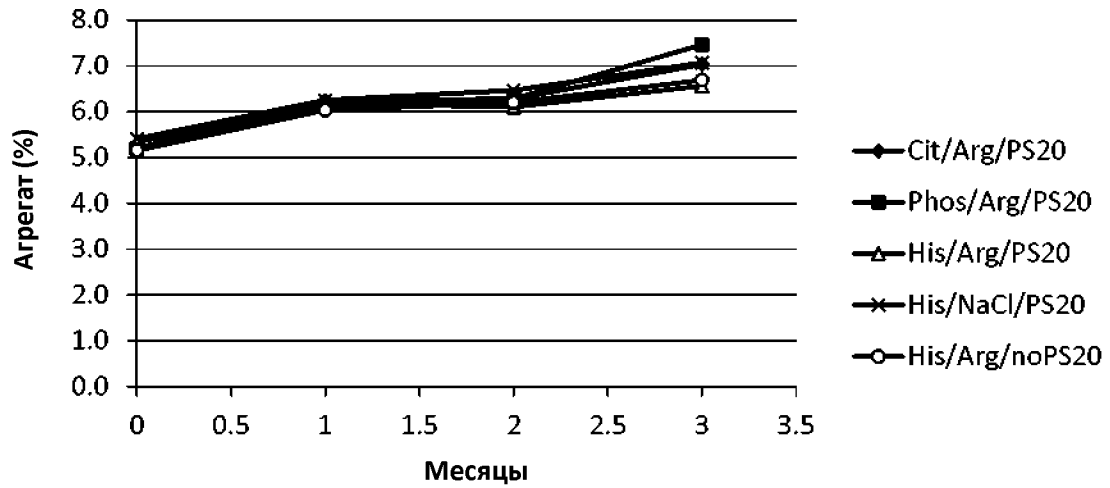
ФИГ. 12



ФИГ. 13

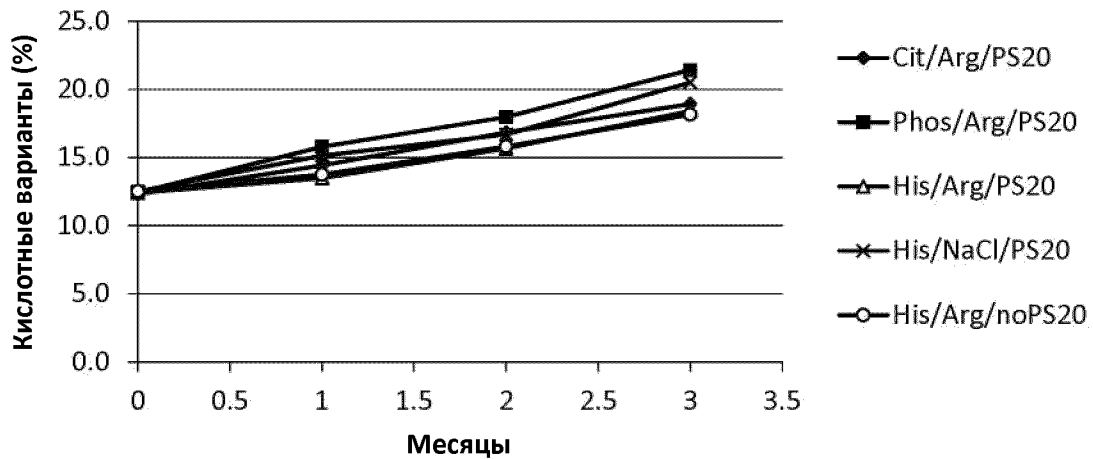


ФИГ. 14

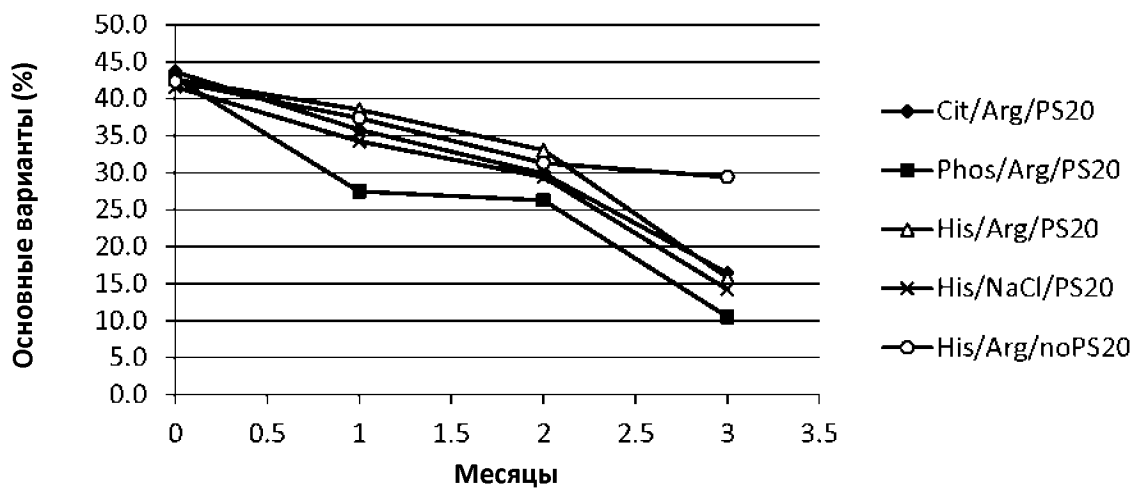


ФИГ. 15

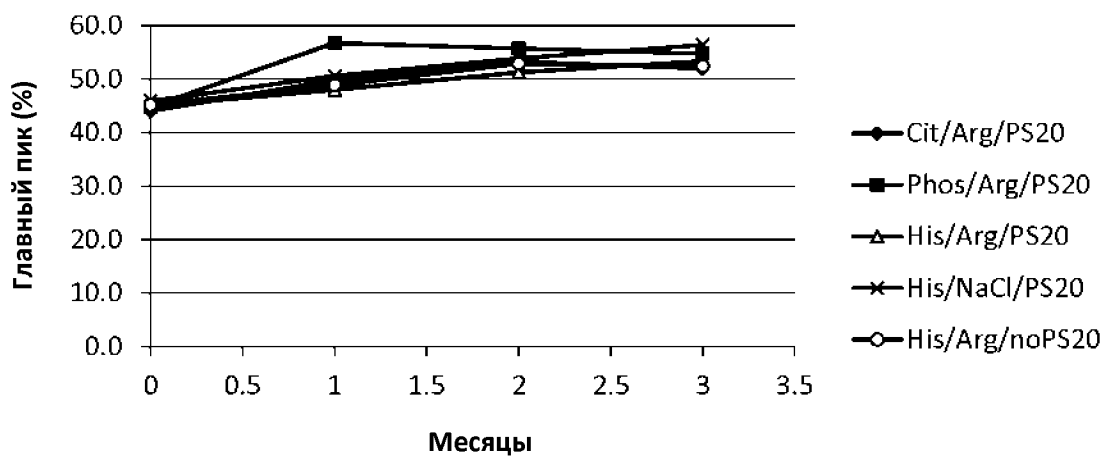
### Влияние вспомогательных веществ на кислотные варианты



ФИГ. 16

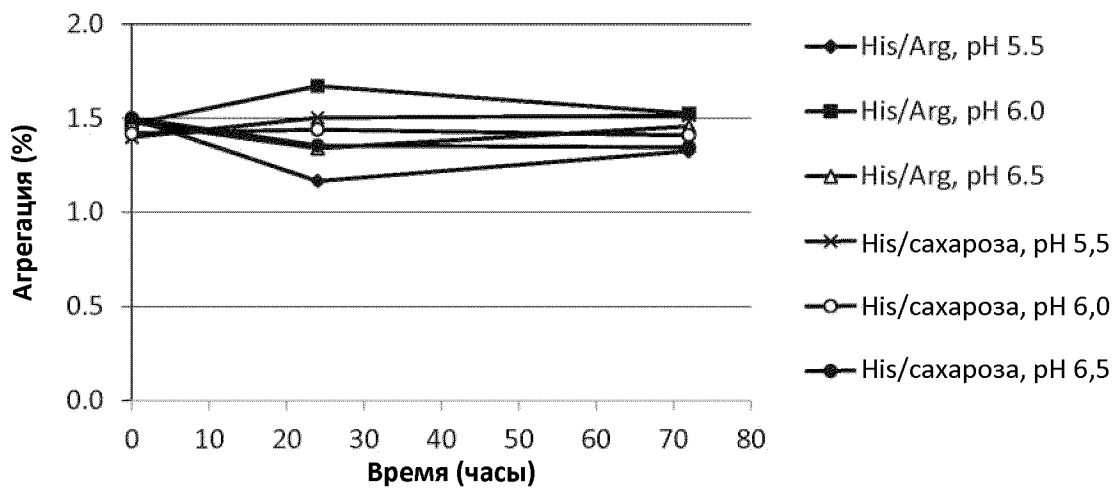
**Влияние вспомогательных веществ на основные варианты**

ФИГ. 17

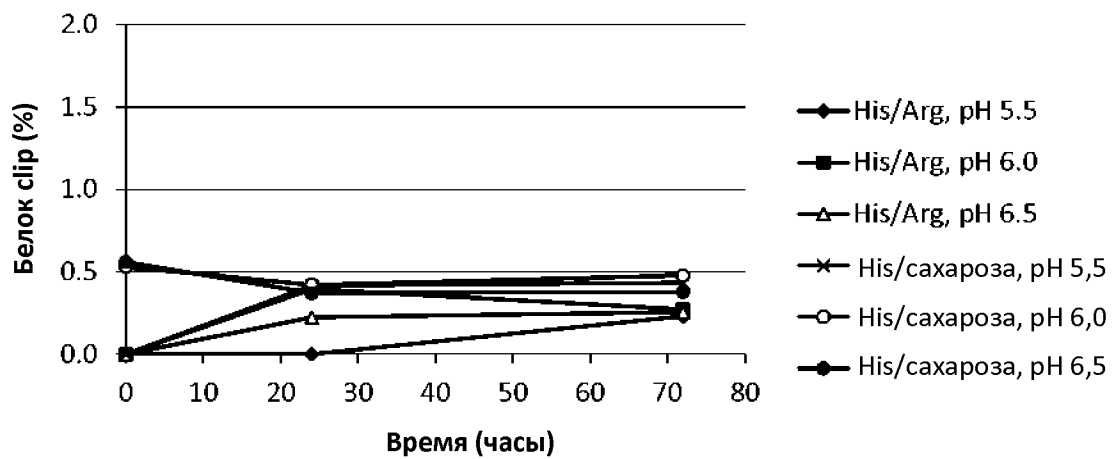
**Влияние вспомогательных веществ на главный пик**

ФИГ. 18

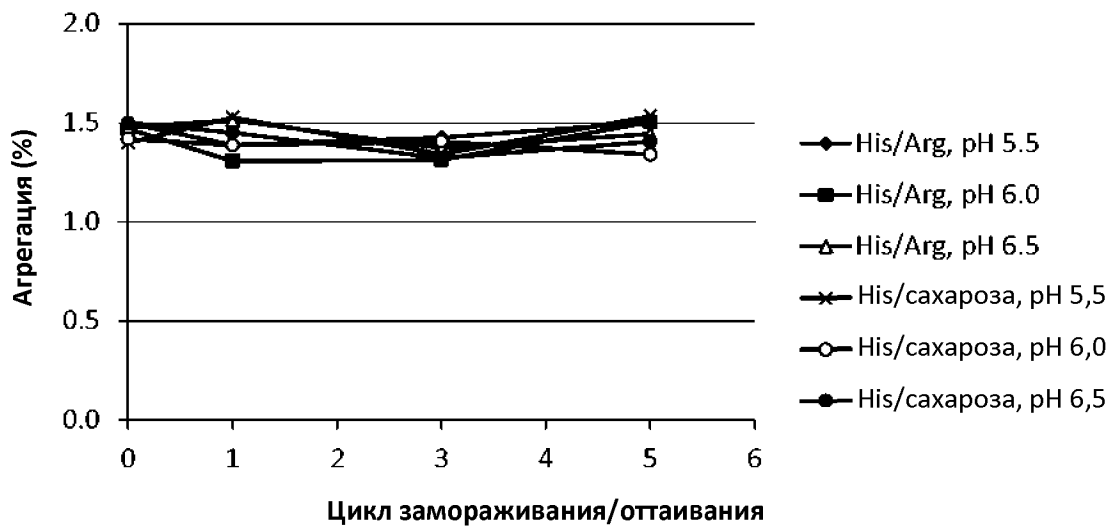




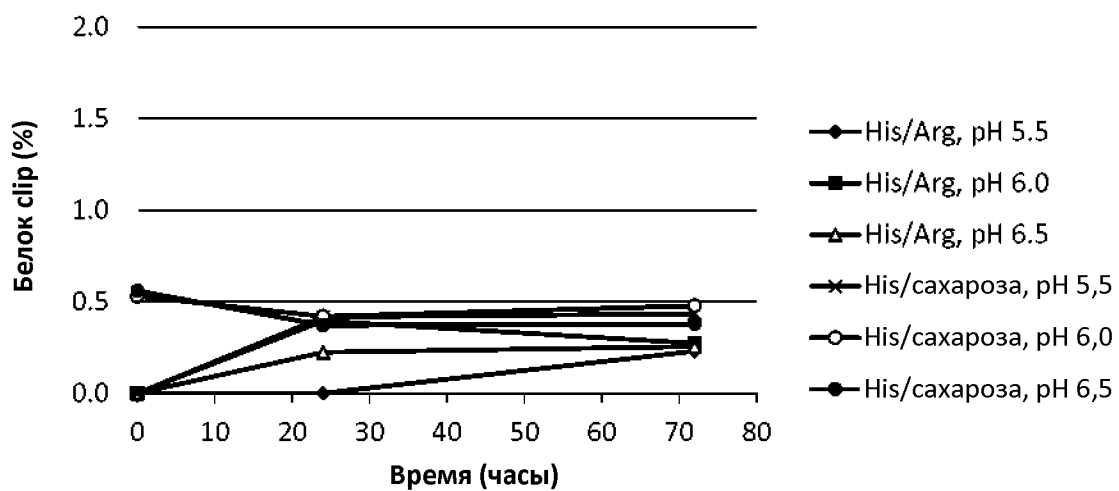
ФИГ. 19



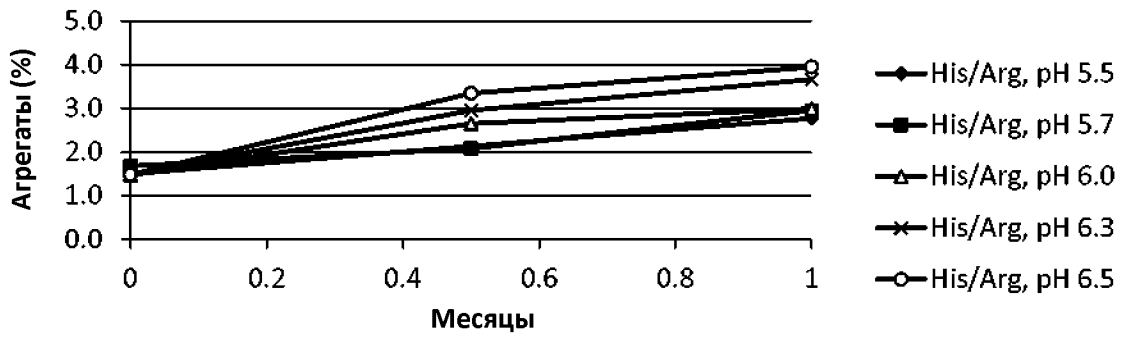
ФИГ. 20



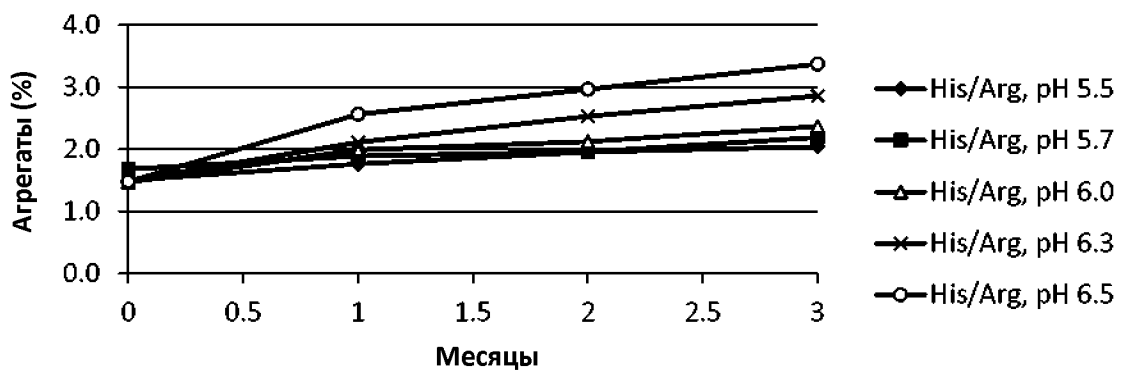
ФИГ. 21



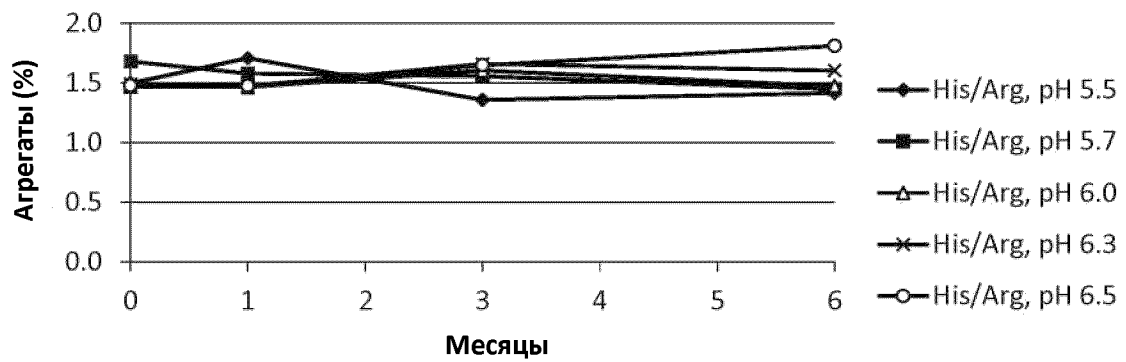
ФИГ. 22



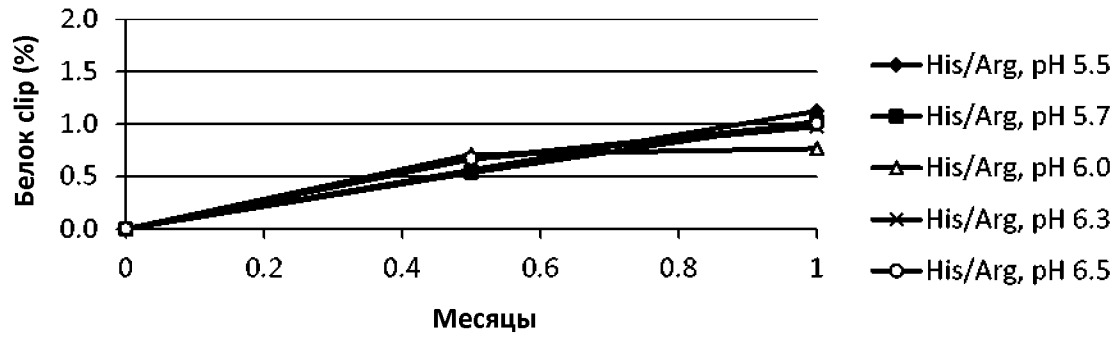
ФИГ. 23А



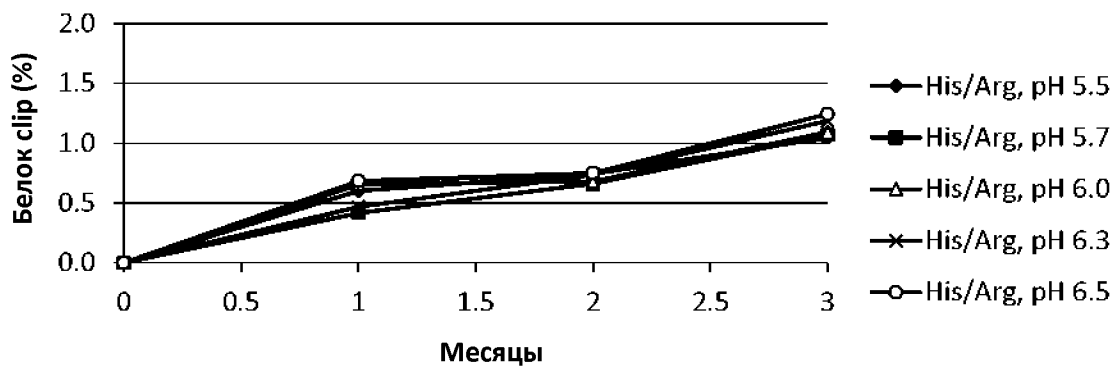
ФИГ. 23В



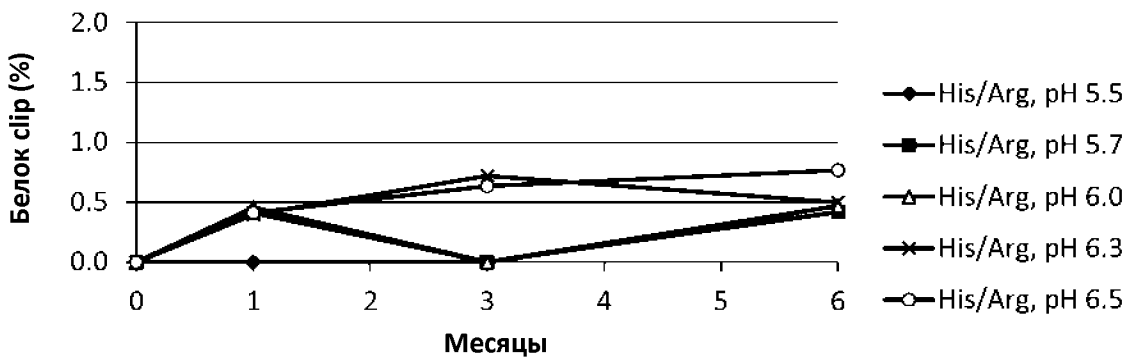
ФИГ. 23С



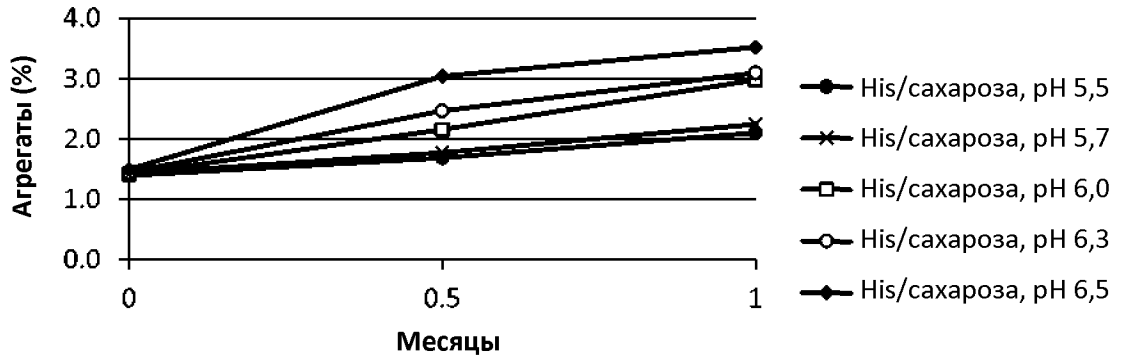
ФИГ. 24А



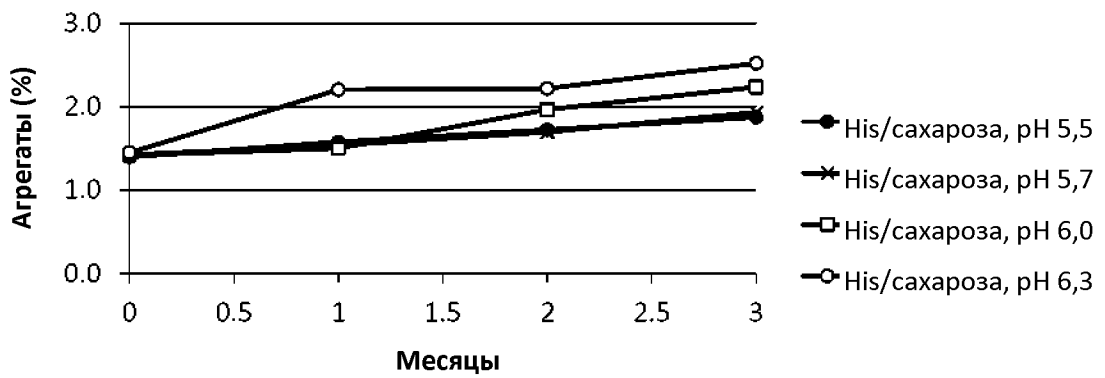
ФИГ. 24В



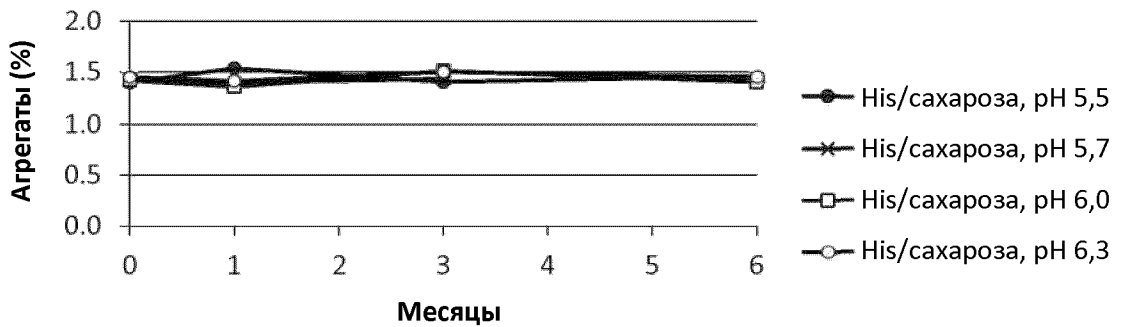
ФИГ. 24С



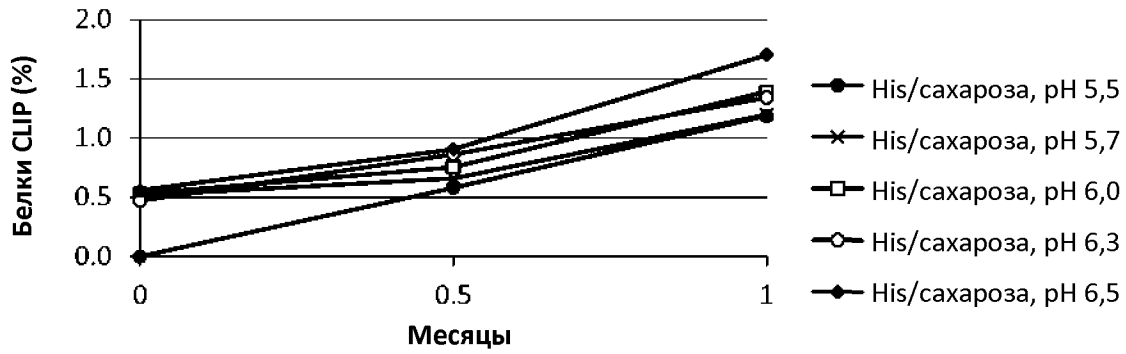
ФИГ. 25А



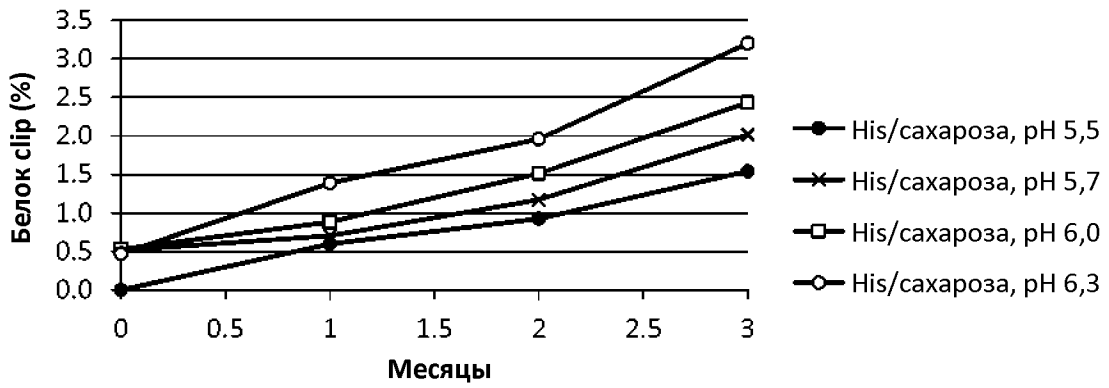
ФИГ. 25В



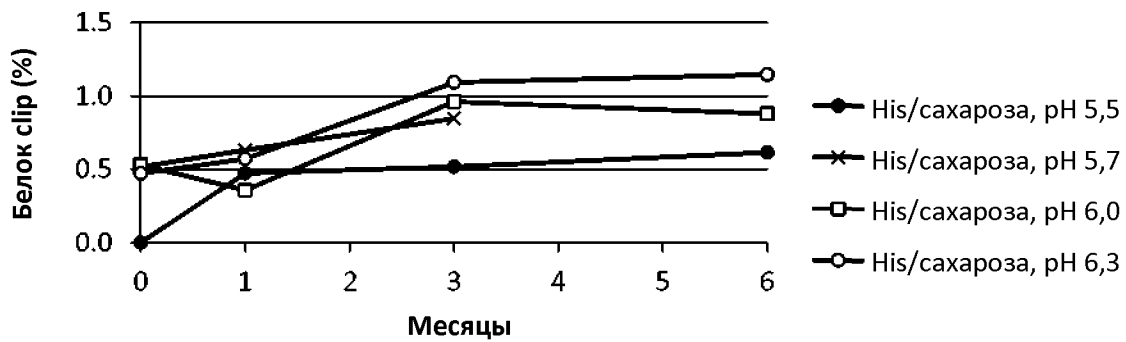
ФИГ. 25С



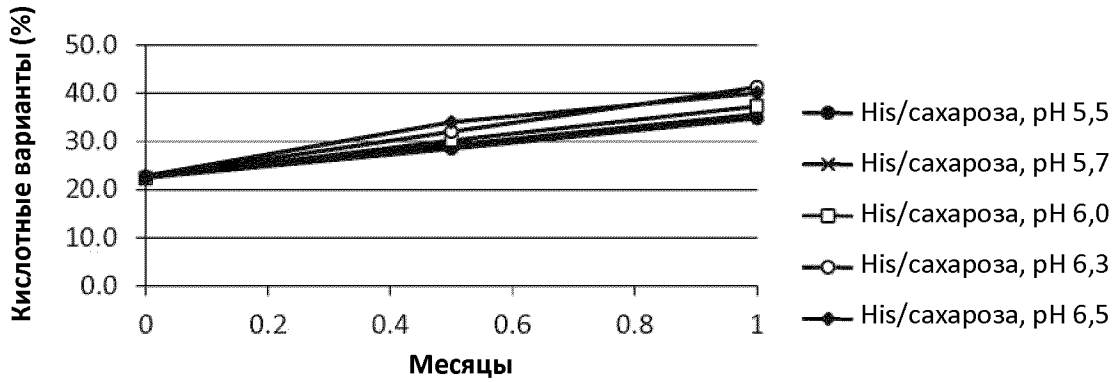
ФИГ. 26А



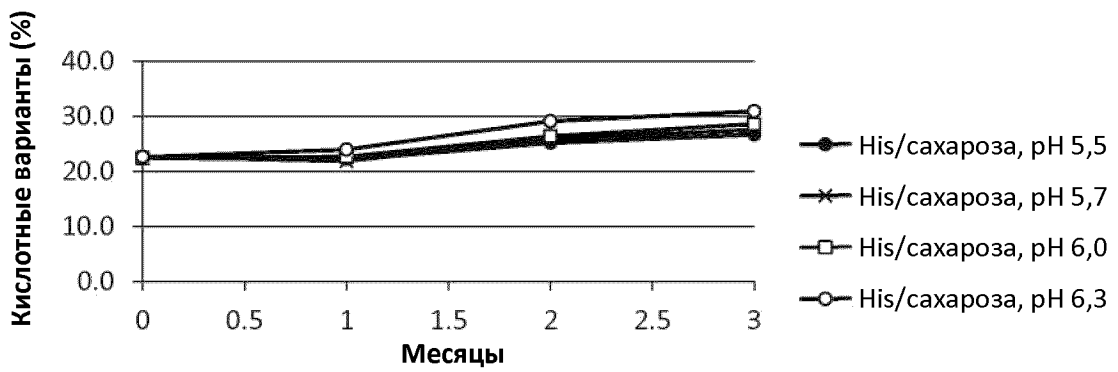
ФИГ. 26В



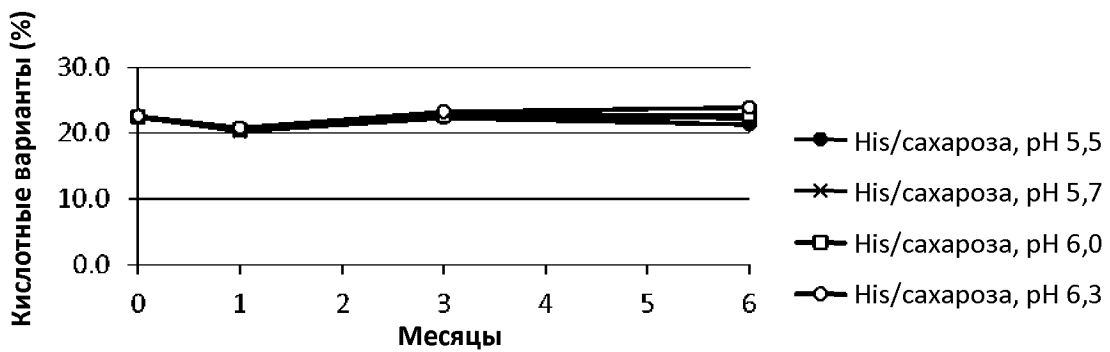
ФИГ. 26С



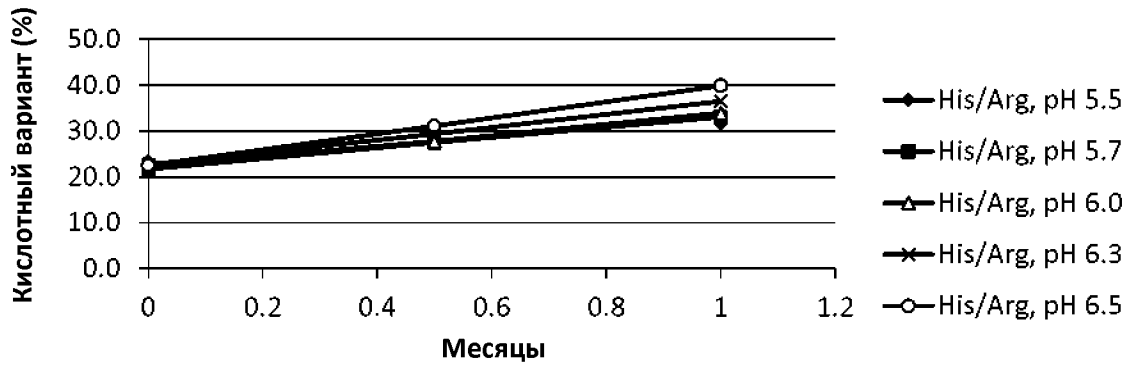
ФИГ. 27А



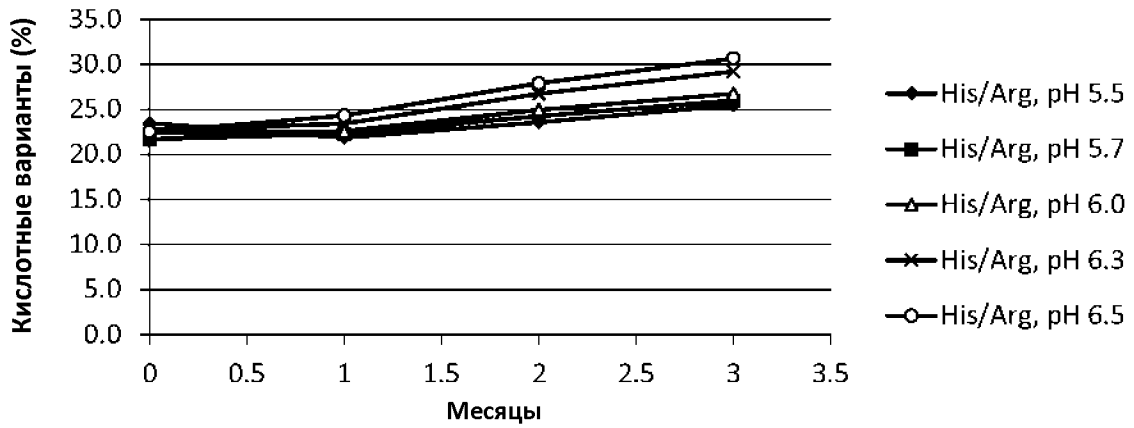
ФИГ. 27В



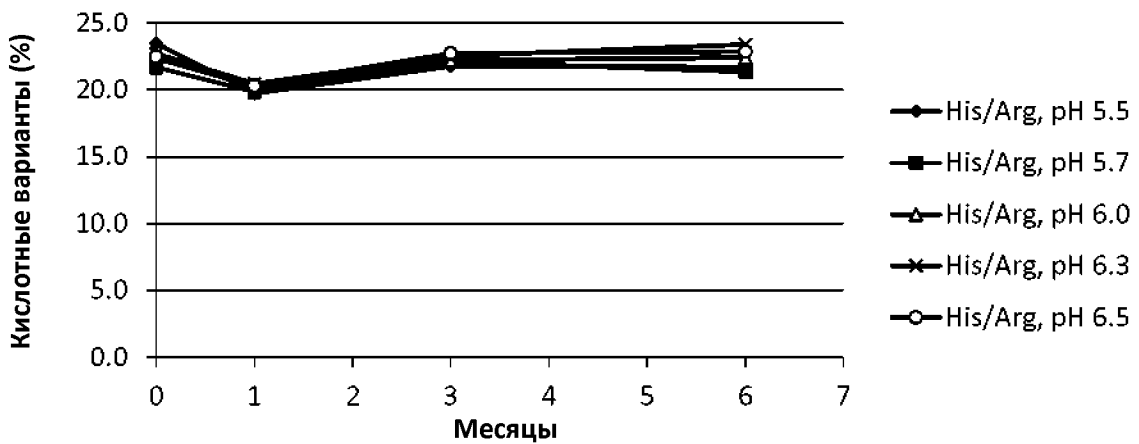
ФИГ. 27С



ФИГ. 28А

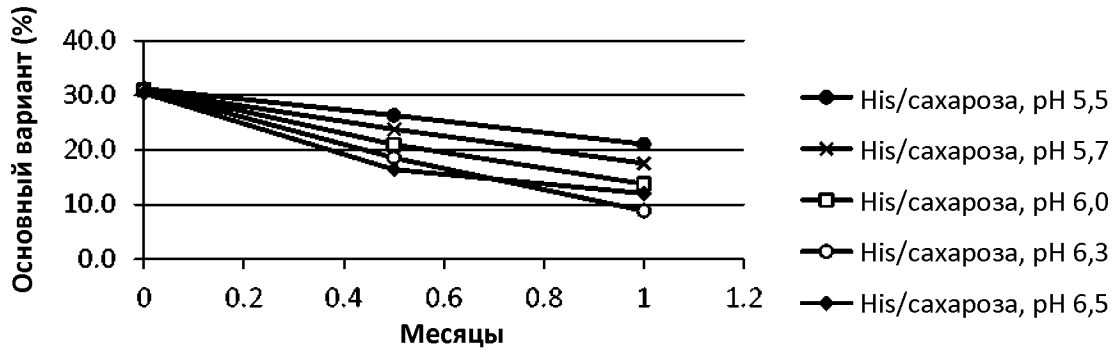


ФИГ. 28В

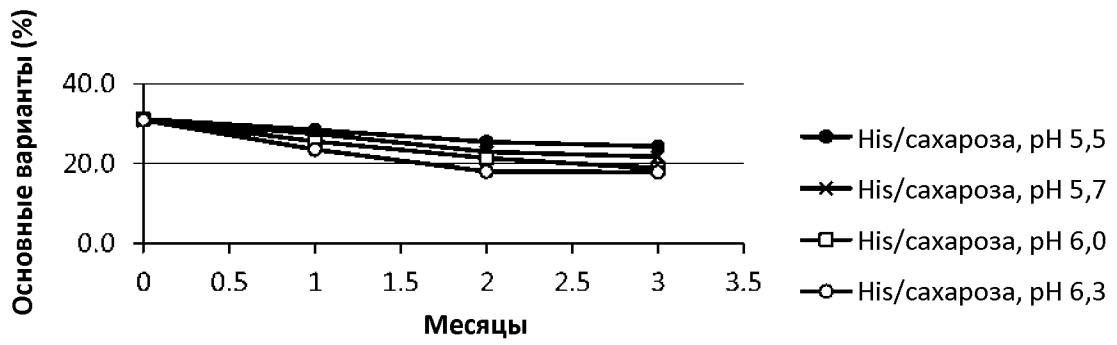


ФИГ. 28С

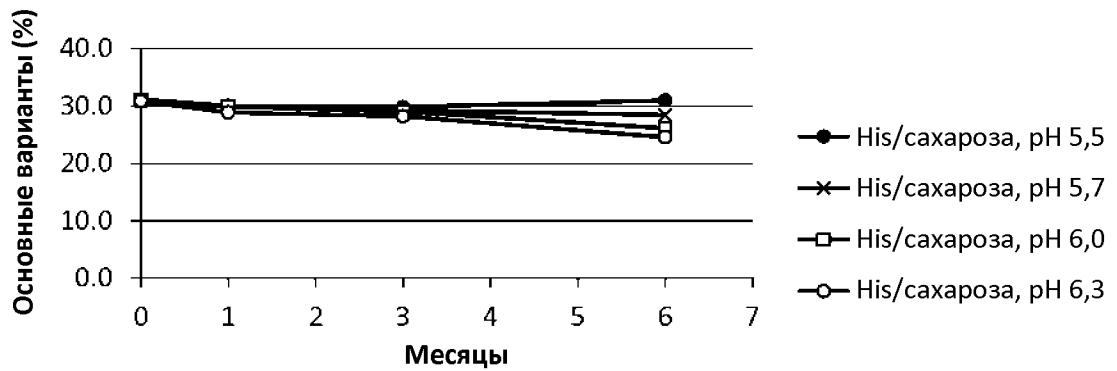




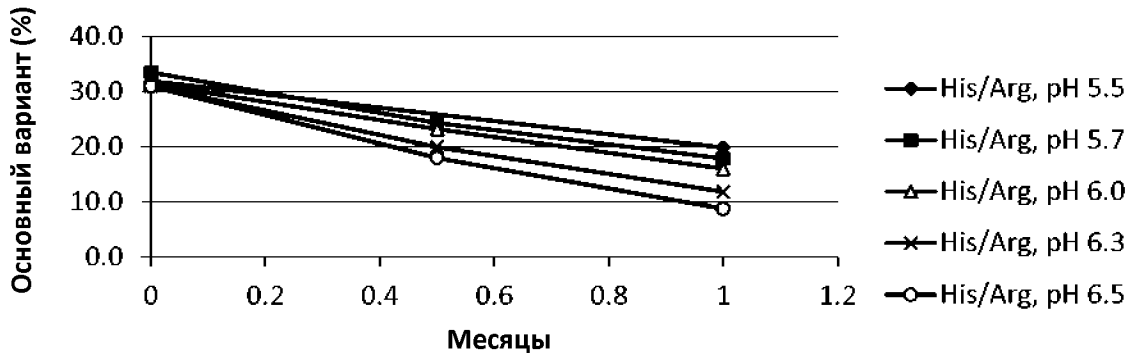
ФИГ. 29А



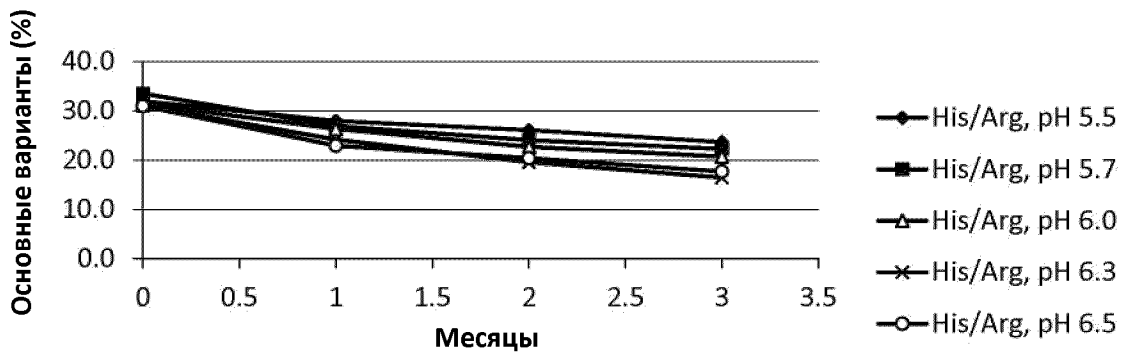
ФИГ. 29В



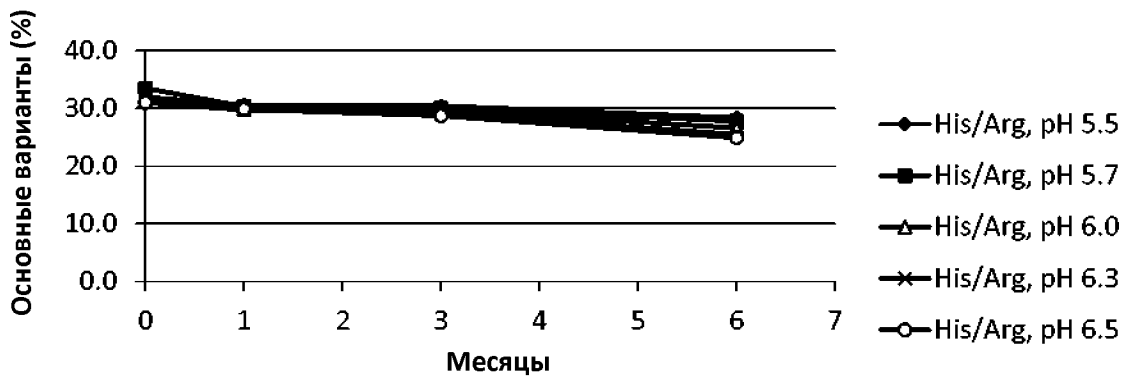
ФИГ. 29С



ФИГ. 30А



ФИГ. 30В



ФИГ. 30С