

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(21) **202392772** (13) **A1**

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

(43) Дата публикации заявки
2024.02.08

(22) Дата подачи заявки
2022.04.01

(51) Int. Cl. *A61K 31/00* (2006.01)
A61K 33/00 (2006.01)
A61K 39/395 (2006.01)
C07K 16/28 (2006.01)
C07K 16/30 (2006.01)

(54) **СТАБИЛИЗИРОВАННЫЕ СОСТАВЫ, СОДЕРЖАЩИЕ БИСПЕЦИФИЧЕСКИЕ
АНТИТЕЛА К MUC16 И К CD3**

(31) **63/170,320; 63/313,927**

(32) **2021.04.02; 2022.02.25**

(33) **US**

(86) **PCT/US2022/023122**

(87) **WO 2022/212885 2022.10.06**

(71) Заявитель:

РИДЖЕНЕРОН

ФАРМАСЬЮТИКАЛЗ, ИНК. (US)

(72) Изобретатель:

**Камен Дуглас, Ян Тэн-Чих, Сюй
Сяобинь, Цю Хайбо, Грэхам Кеннет
(US)**

(74) Представитель:

Медведев В.Н. (RU)

(57) В настоящем изобретении представлены стабильные жидкие фармацевтические составы, содержащие человеческое биспецифическое антитело, которое специфично связывается с MUC16 человека и CD3 человека. В определенных вариантах осуществления составы в дополнение к биспецифическому антителу содержат буфер, поверхностно-активное вещество и сахар. Фармацевтические составы по настоящему изобретению демонстрируют значительную степень стабильности антитела в условиях стресса и при хранении.

A1

202392772

202392772

A1

ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

2420-579366EA/061

СТАБИЛИЗИРОВАННЫЕ СОСТАВЫ, СОДЕРЖАЩИЕ БИСПЕЦИФИЧЕСКИЕ АНТИТЕЛА К MUC16 И К CD3

ССЫЛКА НА ПЕРЕЧЕНЬ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ

[0001] Настоящая заявка включает посредством ссылки перечень последовательностей, поданный в машиночитаемой форме как файл 10820WO01-Sequence.txt, созданный 1 апреля 2022 г. и содержащий 25436 байтов.

ОБЛАСТЬ ТЕХНИКИ, К КОТОРОЙ ОТНОСИТСЯ ИЗОБРЕТЕНИЕ

[0002] Настоящее изобретение относится к области составов на основе терапевтических антител. Более конкретно, настоящее изобретение относится к области фармацевтических составов, содержащих человеческое биспецифическое антитело, которое специфично связывается с MUC16 человека и CD3 человека.

УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

[0003] Терапевтические макромолекулы (*например*, антитела) должны состояться таким образом, чтобы не только сделать молекулы подходящими для введения пациентам, но также и сохранить их стабильность при хранении и последующем применении. Например, если раствор составлен ненадлежащим образом, терапевтические антитела в жидком растворе склонны к разрушению, агрегации и/или нежелательным химическим модификациям. Стабильность антитела в жидком составе зависит не только от видов вспомогательных веществ, используемых в составе, но и также от количеств и пропорций вспомогательных веществ по отношению друг к другу. Кроме того, при получении жидкого состава на основе антител помимо стабильности необходимо принимать во внимание и другие факторы. Примеры таких дополнительных факторов включают концентрацию антитела, которая может быть обеспечена указанным составом, а также визуальное качество или внешний вид состава. Поэтому при составлении терапевтического антитела необходимо проявлять большую осторожность для того, чтобы получить состав, который остается стабильным, содержит антитело в надлежащей концентрации и обладает другими свойствами, которые обеспечивают возможность удобного введения состава пациентам.

[0004] Муцин 16 (MUC16), также известный как раковый антиген 125, антиген карциномы 125, углеводный антиген 125 или CA-125, представляет собой высокогликозилированный интегральный мембранный гликопротеин с одним трансмембранным доменом, который экспрессируется на высоком уровне при раке яичника. CD3 представляет собой гомодимерный или гетеродимерный антиген, экспрессируемый на Т-клетках в ассоциации с комплексом Т-клеточного рецептора (TCR), и он необходим для активации Т-клеток.

[0005] Биспецифические антитела к MUC16 человека и CD3 человека являются одним из примеров терапевтически релевантных макромолекул, для которых требуется надлежащий состав. Такие антитела являются применимыми с клинической точки зрения,

например, для лечения рака (*например*, видов рака, характеризующегося экспрессией MUC16, рака яичника, рака молочной железы, рака поджелудочной железы и немелкоклеточного рака легкого).

[0006] Хотя биспецифические антитела к MUC16 и к CD3 известны из уровня техники (*см.*, *например*, WO 2018/067331), остается необходимость в фармацевтических составах, содержащих биспецифические антитела к MUC16 и к CD3, которые являются достаточно стабильными и подходящими для введения пациентам.

СУЩНОСТЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[0007] Представлены стабильные жидкие фармацевтические составы, содержащие биспецифическое антитело к MUC16 и к CD3 и одно или более вспомогательных веществ, а также наборы, стандартные лекарственные формы и контейнеры, содержащие такие составы, и пути их применения.

[0008] В одном аспекте в настоящем изобретении представлен стабильный жидкий фармацевтический состав, содержащий: (а) биспецифическое антитело, содержащее первый антигенсвязывающий домен, который специфично связывается с MUC16 человека, и второй антигенсвязывающий домен, который специфично связывается с CD3 человека, где первый антигенсвязывающий домен содержит три области, определяющие комплементарность (CDR), тяжелой цепи (A1-HCDR1, A1-HCDR2 и A1-HCDR3), содержащиеся в вариабельной области тяжелой цепи (HCVR), и три CDR легкой цепи (LCDR1, LCDR2 и LCDR3), содержащиеся в вариабельной области легкой цепи (LCVR), и второй антигенсвязывающий домен содержит три CDR тяжелой цепи (A2-HCDR1, A2-HCDR2 и A2-HCDR3), содержащиеся в вариабельной области тяжелой цепи (HCVR), и три CDR легкой цепи (LCDR1, LCDR2 и LCDR3), содержащиеся в вариабельной области легкой цепи (LCVR), где A1-HCDR1, A1-HCDR2 и A1-HCDR3 содержат аминокислотные последовательности под SEQ ID NO: 7, 8 и 9 соответственно, A2-HCDR1, A2-HCDR2 и A2-HCDR3 содержат аминокислотные последовательности под SEQ ID NO: 10, 11 и 12 соответственно, и LCDR1, LCDR2 и LCDR3 содержат аминокислотные последовательности под SEQ ID NO: 13, 14 и 15 соответственно; (b) буфер, содержащий ацетат натрия; (c) органический соразтворитель, содержащий полисорбат; и (d) стабилизатор, содержащий сахар; где состав имеет pH $5,0 \pm 0,5$.

[0009] В некоторых случаях концентрация антитела составляет от 1 мг/мл $\pm 0,1$ мг/мл до 200 мг/мл ± 20 мг/мл. В некоторых случаях концентрация антитела составляет от 5 мг/мл $\pm 0,5$ мг/мл до 50 мг/мл ± 5 мг/мл. В некоторых случаях концентрация антитела составляет 5 мг/мл $\pm 0,5$ мг/мл. В некоторых случаях концентрация антитела составляет 50 мг/мл ± 5 мг/мл. В некоторых случаях концентрация антитела составляет 150 мг/мл ± 15 мг/мл.

[0010] В некоторых случаях концентрация ацетатного буфера составляет от 10 мМ ± 1 мМ до 50 мМ ± 5 мМ. В некоторых случаях концентрация ацетатного буфера составляет от 25 мМ $\pm 2,5$ мМ до 35 мМ $\pm 3,5$ мМ. В некоторых случаях концентрация ацетатного буфера составляет 30 мМ ± 3 мМ.

[0011] В некоторых случаях концентрация полисорбата составляет от $0,01\% \pm 0,005\%$ до $0,5\% \pm 0,05\%$ вес/об. В некоторых случаях концентрация полисорбата составляет от $0,1\% \pm 0,05\%$ до $0,3\% \pm 0,03\%$ вес/об. В некоторых случаях концентрация полисорбата составляет $0,2\% \pm 0,02\%$ вес/об. В некоторых случаях концентрация полисорбата составляет $0,05\% \pm 0,01\%$ вес/об. В некоторых вариантах осуществления полисорбат представляет собой полисорбат 20.

[0012] В некоторых вариантах осуществления сахар представляет собой сахарозу. В некоторых случаях концентрация сахарозы составляет от $5\% \pm 1\%$ до $20\% \pm 4\%$ вес/об. В некоторых случаях концентрация сахарозы составляет от $7\% \pm 0,5\%$ до $12\% \pm 0,5\%$ вес/об. В некоторых случаях концентрация сахарозы составляет $10\% \pm 1\%$ вес/об. В некоторых случаях концентрация сахарозы составляет $7\% \pm 0,7\%$ вес/об. В некоторых случаях концентрация сахарозы составляет $8\% \pm 0,8\%$ вес/об.

[0013] В некоторых вариантах осуществления фармацевтический состав содержит: (a) $5 \text{ мг/мл} \pm 0,5 \text{ мг/мл}$ антитела, (b) от $25 \text{ мМ} \pm 2 \text{ мМ}$ до $35 \text{ мМ} \pm 2 \text{ мМ}$ ацетатного буфера, (c) от $0,1\% \pm 0,05\%$ до $0,3\% \pm 0,05\%$ вес/об. полисорбата и (d) от $5\% \pm 1\%$ до $15\% \pm 3\%$ вес/об. сахарозы при pH $5,0 \pm 0,5$.

[0014] В некоторых вариантах осуществления фармацевтический состав содержит: (a) $5 \text{ мг/мл} \pm 0,5 \text{ мг/мл}$ антитела, (b) $30 \text{ мМ} \pm 1 \text{ мМ}$ ацетатного буфера, (c) $0,2\% \pm 0,02\%$ вес/об. полисорбата и (d) $10\% \pm 1\%$ вес/об. сахарозы при pH $5,0 \pm 0,3$.

[0015] В некоторых вариантах осуществления фармацевтический состав содержит: (a) $50 \text{ мг/мл} \pm 5 \text{ мг/мл}$ антитела, (b) от $25 \text{ мМ} \pm 2 \text{ мМ}$ до $35 \text{ мМ} \pm 2 \text{ мМ}$ ацетатного буфера, (c) от $0,1\% \pm 0,05\%$ до $0,3\% \pm 0,05\%$ вес/об. полисорбата и (d) от $5\% \pm 1\%$ до $15\% \pm 3\%$ вес/об. сахарозы при pH $5,0 \pm 0,5$.

[0016] В некоторых вариантах осуществления фармацевтический состав содержит: (a) $50 \text{ мг/мл} \pm 0,5 \text{ мг/мл}$ антитела, (b) $30 \text{ мМ} \pm 1 \text{ мМ}$ ацетатного буфера, (c) $0,2\% \pm 0,02\%$ вес/об. полисорбата и (d) $10\% \pm 1\%$ вес/об. сахарозы при pH $5,0 \pm 0,3$.

[0017] В любом из этих вариантов осуществления полисорбат может представлять собой полисорбат 20.

[0018] В любом из различных вариантов осуществления, обсуждаемых выше, состав содержит не более чем 2,5% высокомолекулярных (HMW) соединений после 12 месяцев или 24 месяцев хранения при 5°C , как определено с помощью эксклюзионной сверхэффективной жидкостной хроматографии (SE-UPLC). В некоторых случаях состав содержит не более чем 3,5% высокомолекулярных (HMW) соединений после 6 месяцев хранения при 25°C и относительной влажности 60%, как определено с помощью SE-UPLC. В некоторых случаях состав содержит не более чем 1,5% высокомолекулярных (HMW) соединений после 12 месяцев хранения при -30°C или не более чем 2,0% HMW-соединений после 24 месяцев хранения при -30°C , как определено с помощью SE-UPLC. В некоторых случаях состав содержит не более чем 1,5% высокомолекулярных (HMW) соединений после 12 месяцев хранения при -80°C или не более чем 2,0% HMW-соединений после 24 месяцев хранения при -30°C , как определено с помощью SE-UPLC.

[0019] В одном аспекте в настоящем изобретении представлен стабильный жидкий фармацевтический состав, восстановленный из лиофилизата, содержащий: (а) биспецифическое антитело в концентрации от 1 мг/мл до 30 мг/мл, где биспецифическое антитело содержит первый антигенсвязывающий домен, который специфично связывается с MUC16 человека, и второй антигенсвязывающий домен, который специфично связывается с CD3 человека, где первый антигенсвязывающий домен содержит три области, определяющие комплементарность (CDR), тяжелой цепи (A1-HCDR1, A1-HCDR2 и A1-HCDR3), содержащиеся в вариабельной области тяжелой цепи (HCVR), и три CDR легкой цепи (LCDR1, LCDR2 и LCDR3), содержащиеся в вариабельной области легкой цепи (LCVR), и второй антигенсвязывающий домен содержит три CDR тяжелой цепи (A2-HCDR1, A2-HCDR2 и A2-HCDR3), содержащиеся в вариабельной области тяжелой цепи (HCVR), и три CDR легкой цепи (LCDR1, LCDR2 и LCDR3), содержащиеся в вариабельной области легкой цепи (LCVR), где A1-HCDR1, A1-HCDR2 и A1-HCDR3 содержат аминокислотные последовательности под SEQ ID NO: 7, 8 и 9 соответственно, A2-HCDR1, A2-HCDR2 и A2-HCDR3 содержат аминокислотные последовательности под SEQ ID NO: 10, 11 и 12 соответственно, и LCDR1, LCDR2 и LCDR3 содержат аминокислотные последовательности под SEQ ID NO: 13, 14 и 15 соответственно; (b) буфер, содержащий гистидин; (c) органический соразтворитель, содержащий полисорбат; и (d) стабилизатор, содержащий сахар; где состав имеет pH $6,0 \pm 0,5$.

[0020] В некоторых случаях концентрация антитела составляет $2 \text{ мг/мл} \pm 0,5 \text{ мг/мл}$. В некоторых случаях концентрация антитела составляет $20 \text{ мг/мл} \pm 2 \text{ мг/мл}$. В некоторых случаях концентрация гистидинового буфера составляет от $5 \text{ mM} \pm 1 \text{ mM}$ до $15 \text{ mM} \pm 1 \text{ mM}$. В некоторых случаях концентрация гистидинового буфера составляет $10 \text{ mM} \pm 1 \text{ mM}$. В некоторых случаях концентрация полисорбата составляет от 0,01% до 0,1% вес/об. В некоторых случаях концентрация полисорбата составляет $0,05\% \pm 0,01\%$ вес/об. В некоторых вариантах осуществления полисорбат представляет собой полисорбат 20. В некоторых вариантах осуществления сахар представляет собой сахарозу. В некоторых случаях концентрация сахарозы составляет от $8\% \pm 0,5\%$ до $12\% \pm 0,5\%$ вес/об. В некоторых случаях концентрация сахарозы составляет $10\% \pm 1\%$ вес/об.

[0021] В любом из вариантов осуществления данного аспекта настоящего изобретения (a) по меньшей мере 95% антитела характеризуются нативной конформацией после 12 месяцев, после 18 месяцев, после 24 месяцев или после 36 месяцев хранения при 5°C ; (b) по меньшей мере 95% антитела характеризуются нативной конформацией после 6 месяцев хранения при 25°C и относительной влажности 60%; (c) по меньшей мере 95% антитела характеризуются нативной конформацией после 3 месяцев хранения при 37°C ; (d) состав содержит не более чем 1% высокомолекулярных (HMW) соединений после 12 месяцев, после 18 месяцев, после 24 месяцев или после 36 месяцев хранения при 5°C ; (e) состав содержит не более чем 1% HMW-соединений после 6 месяцев хранения при 25°C и относительной влажности 60% или (f) состав содержит не более чем 1% HMW-соединений после 3 месяцев хранения при 37°C ; как определено с помощью SE-UPLC.

[0022] В одном аспекте в настоящем изобретении представлен стабильный жидкий фармацевтический состав, содержащий: (а) биспецифическое антитело в концентрации от 100 мг/мл до 200 мг/мл, где биспецифическое антитело содержит первый антигенсвязывающий домен, который специфично связывается с MUC16 человека, и второй антигенсвязывающий домен, который специфично связывается с CD3 человека, где первый антигенсвязывающий домен содержит три области, определяющие комплементарность (CDR), тяжелой цепи (A1-HCDR1, A1-HCDR2 и A1-HCDR3), содержащиеся в вариабельной области тяжелой цепи (HCVR), и три CDR легкой цепи (LCDR1, LCDR2 и LCDR3), содержащиеся в вариабельной области легкой цепи (LCVR), и второй антигенсвязывающий домен содержит три CDR тяжелой цепи (A2-HCDR1, A2-HCDR2 и A2-HCDR3), содержащиеся в вариабельной области тяжелой цепи (HCVR), и три CDR легкой цепи (LCDR1, LCDR2 и LCDR3), содержащиеся в вариабельной области легкой цепи (LCVR), где A1-HCDR1, A1-HCDR2 и A1-HCDR3 содержат аминокислотные последовательности под SEQ ID NO: 7, 8 и 9 соответственно, A2-HCDR1, A2-HCDR2 и A2-HCDR3 содержат аминокислотные последовательности под SEQ ID NO: 10, 11 и 12 соответственно, и LCDR1, LCDR2 и LCDR3 содержат аминокислотные последовательности под SEQ ID NO: 13, 14 и 15 соответственно; (b) буфер, содержащий ацетат; (c) стабилизатор, содержащий сахар; и (d) поверхностно-активное вещество, содержащее полисорбат, где состав имеет pH $5,0 \pm 0,5$.

[0023] В некоторых случаях концентрация антитела составляет от 125 мг/мл до 175 мг/мл. В некоторых случаях концентрация антитела составляет $150 \text{ мг/мл} \pm 10 \text{ мг/мл}$. В некоторых вариантах осуществления сахар представляет собой сахарозу. В некоторых случаях концентрация сахарозы составляет от 4% до 12% вес/об. В некоторых случаях концентрация сахарозы составляет $8\% \text{ вес/об.} \pm 1\% \text{ вес/об.}$ В некоторых случаях концентрация ацетатного буфера составляет от 25 мМ до 35 мМ. В некоторых случаях концентрация ацетатного буфера составляет $30 \text{ мМ} \pm 1 \text{ мМ}$. В некоторых случаях полисорбат представляет собой полисорбат 20. В некоторых случаях концентрация полисорбата 20 составляет от 0,01% вес/об. до 0,1% вес/об. Концентрация полисорбата 20 составляет $0,05\% \text{ вес/об.} \pm 0,01\% \text{ вес/об.}$

[0024] В любом из вариантов осуществления данного аспекта настоящего изобретения (а) состав содержит не более чем 2,5% высокомолекулярных (HMW) соединений после 12 месяцев или после 24 месяцев хранения при -30°C или -80°C ; (b) состав содержит не более чем 4% HMW-соединений после 6 месяцев хранения при 5°C или (c) состав содержит не более чем 6% HMW-соединений после 6 месяцев хранения при 25°C и относительной влажности 60%; как определено с помощью SE-UPLC.

[0025] В любом из различных вариантов осуществления, обсуждаемых выше или в данном документе, состав содержит не более чем 40%, не более чем 39%, не более чем 38%, не более чем 37%, не более чем 36% или не более чем 35% гликированных вариантов соединений, где гликированный вариант соединения характеризуется гликированием по остатку 98 в SEQ ID NO: 1 или SEQ ID NO: 4 или остатку 2 в SEQ ID NO: 9.

[0026] В любом из различных вариантов осуществления, обсуждаемых выше или в данном документе, первый антигенсвязывающий домен содержит HCVR с по меньшей мере 90% идентичностью с аминокислотной последовательностью под SEQ ID NO: 4 и LCVR с по меньшей мере 90% идентичностью с аминокислотной последовательностью под SEQ ID NO: 6, и второй антигенсвязывающий домен содержит HCVR с по меньшей мере 90% идентичностью с аминокислотной последовательностью под SEQ ID NO: 5 и LCVR с по меньшей мере 90% идентичностью с аминокислотной последовательностью под SEQ ID NO: 6.

[0027] В любом из различных вариантов осуществления, обсуждаемых выше или в данном документе, первый антигенсвязывающий домен содержит HCVR с по меньшей мере 95% идентичностью с аминокислотной последовательностью под SEQ ID NO: 4 и LCVR с по меньшей мере 95% идентичностью с аминокислотной последовательностью под SEQ ID NO: 6, и второй антигенсвязывающий домен содержит HCVR с по меньшей мере 95% идентичностью с аминокислотной последовательностью под SEQ ID NO: 5 и LCVR с по меньшей мере 95% идентичностью с аминокислотной последовательностью под SEQ ID NO: 6.

[0028] В любом из различных вариантов осуществления, обсуждаемых выше или в данном документе, первый антигенсвязывающий домен содержит HCVR с по меньшей мере 99% идентичностью с аминокислотной последовательностью под SEQ ID NO: 4 и LCVR с по меньшей мере 99% идентичностью с аминокислотной последовательностью под SEQ ID NO: 6, и второй антигенсвязывающий домен содержит HCVR с по меньшей мере 99% идентичностью с аминокислотной последовательностью под SEQ ID NO: 5 и LCVR с по меньшей мере 99% идентичностью с аминокислотной последовательностью под SEQ ID NO: 6.

[0029] В любом из различных вариантов осуществления, обсуждаемых выше или в данном документе, первый антигенсвязывающий домен содержит HCVR, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 4, и LCVR, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 6, и второй антигенсвязывающий домен содержит HCVR, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 5, и LCVR, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 6.

[0030] В одном аспекте в настоящем изобретении представлен стабильный фармацевтический состав, содержащий: (a) 5 мг/мл \pm 0,5 мг/мл биспецифического антитела, содержащего первый антигенсвязывающий домен, который специфично связывается с MUC16 человека, и второй антигенсвязывающий домен, который специфично связывается с CD3 человека, где первый антигенсвязывающий домен содержит HCVR, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 4, и LCVR, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 6, и второй антигенсвязывающий домен содержит HCVR, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 5, и LCVR, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 6; (b) 30 мМ \pm 1 мМ буфера на основе ацетата натрия,

pH $5,0 \pm 0,2$, (c) $0,2\% \pm 0,02\%$ вес/об. полисорбата 20 и (d) $10\% \pm 1\%$ вес/об. сахарозы.

[0031] В одном аспекте в настоящем изобретении представлен стабильный фармацевтический состав, содержащий: (a) $50 \text{ мг/мл} \pm 5 \text{ мг/мл}$ биспецифического антитела, содержащего первый антигенсвязывающий домен, который специфично связывается с MUC16 человека, и второй антигенсвязывающий домен, который специфично связывается с CD3 человека, где первый антигенсвязывающий домен содержит HCVR, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 4, и LCVR, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 6, и второй антигенсвязывающий домен содержит HCVR, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 5, и LCVR, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 6; (b) $30 \text{ мМ} \pm 1 \text{ мМ}$ буфера на основе ацетата натрия, pH $5,0 \pm 0,2$, (c) $0,2\% \pm 0,02\%$ вес/об. полисорбата 20 и (d) $10\% \pm 1\%$ вес/об. сахарозы.

[0032] В одном аспекте в настоящем изобретении представлен стабильный фармацевтический состав, содержащий: (a) $150 \text{ мг/мл} \pm 15 \text{ мг/мл}$ биспецифического антитела, содержащего первый антигенсвязывающий домен, который специфично связывается с MUC16 человека, и второй антигенсвязывающий домен, который специфично связывается с CD3 человека, где первый антигенсвязывающий домен содержит HCVR, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 4, и LCVR, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 6, и второй антигенсвязывающий домен содержит HCVR, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 5, и LCVR, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 6; (b) $30 \text{ мМ} \pm 1 \text{ мМ}$ буфера на основе ацетата натрия, pH $5,0 \pm 0,2$, (c) $0,05\% \pm 0,01\%$ вес/об. полисорбата 20 и (d) $8\% \pm 1\%$ вес/об. сахарозы.

[0033] В любом из различных вариантов осуществления, обсуждаемых выше или в данном документе, антитело содержит константную область тяжелой цепи IgG человека, присоединенную соответственно к HCVR каждого из первого антигенсвязывающего домена и второго антигенсвязывающего домена. В некоторых случаях константная область тяжелой цепи относится к изолипу IgG1. В некоторых случаях константная область тяжелой цепи относится к изолипу IgG4.

[0034] В некоторых вариантах осуществления константная область тяжелой цепи, присоединенная к HCVR первого антигенсвязывающего домена, или константная область тяжелой цепи, присоединенная к HCVR второго антигенсвязывающего домена, но не они обе, содержит аминокислотную модификацию, которая обеспечивает снижение связывания с белком А по сравнению с тяжелой цепью того же изолипа без модификации. В некоторых случаях модификация предусматривает замену H435R (нумерация согласно EU) в тяжелой цепи изолипа IgG1 или IgG4. В некоторых случаях модификация предусматривает замену H435R и замену Y436F (нумерация согласно EU) в тяжелой цепи изолипа IgG1 или IgG4.

[0035] В любом из различных вариантов осуществления, обсуждаемых выше или в данном документе, антитело содержит константную область тяжелой цепи, содержащую

аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 18 и SEQ ID NO: 19. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит константную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 16, и константную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 17. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит константную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 18, и константную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 19.

[0036] В любом из различных вариантов осуществления, обсуждаемых выше или в данном документе, антитело содержит первую тяжелую цепь, содержащую HCVR первого антигенсвязывающего домена, и вторую тяжелую цепь, содержащую HCVR второго антигенсвязывающего домена, где первая тяжелая цепь содержит остатки 1-442 из аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 1, и вторая тяжелая цепь содержит остатки 1-449 из аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 2. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит общую легкую цепь, содержащую LCVR первого и второго антигенсвязывающих доменов, где общая легкая цепь содержит аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 3.

[0037] В любом из различных вариантов осуществления, обсуждаемых выше или в данном документе, фармацевтический состав может считаться стабильным в результате измерения изменения процентного содержания «гликированных соединений», где изменение процентного содержания гликированных соединений является следующим: (i) не более чем 1,5% после 6 месяцев хранения при 5°C; (ii) не более чем 3% после 12 месяцев хранения при 5°C; (iii) не более чем 1,5% после 12 месяцев, после 18 месяцев или после 24 месяцев хранения при -30°C или не более чем 1% после 12 месяцев, после 18 месяцев или после 24 месяцев хранения при -80°C, как определено с помощью катионообменной сверхэффективной жидкостной хроматографии (CEX-UPLC) и/или с помощью жидкостной хроматографии с масс-спектрометрией (LC-MS).

[0038] В одном аспекте в настоящем изобретении представлена фармацевтическая композиция, где композиция содержит фармацевтический состав, обсуждаемый выше или в данном документе, и композиция содержится в контейнере.

[0039] В некоторых вариантах осуществления контейнер представляет собой флакон. В некоторых случаях флакон представляет собой флакон на 2 мл, 5 мл или 10 мл из прозрачного стекла 1 типа. В некоторых вариантах осуществления контейнер представляет собой шприц. В некоторых случаях шприц изготовлен из стекла с низким содержанием вольфрама. В некоторых вариантах осуществления контейнер представляет собой предварительно заполненный шприц. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержится в автоиньекторе.

[0040] В одном аспекте в настоящем изобретении представлен набор, содержащий (i) контейнер, содержащий композицию, содержащую фармацевтический состав,

обсуждаемый выше или в данном документе, и инструкции по применению композиции.

[0041] В некоторых вариантах осуществления контейнер представляет собой стеклянный флакон. В некоторых вариантах осуществления контейнер представляет собой предварительно заполненный шприц. В некоторых вариантах осуществления контейнер представляет собой автоинъектор.

[0042] В некоторых вариантах осуществления в инструкциях указано подкожное введение композиции. В некоторых вариантах осуществления в инструкциях указано внутривенное введение композиции.

[0043] В одном аспекте в настоящем изобретении представлена стандартная лекарственная форма, содержащая фармацевтический состав, обсуждаемый выше или в данном документе, где антитело присутствует в количестве от 0,1 мг до 500 мг. В некоторых случаях антитело присутствует в количестве от 5 ± 1 мг до 50 ± 5 мг. В некоторых случаях антитело присутствует в количестве от 10 ± 1 мг до 200 ± 20 мг. В некоторых вариантах осуществления антитело присутствует в количестве 4 мг, 5 мг, 10 мг, 12,5 мг, 40 мг, 50 мг, 150 мг или 180 мг.

[0044] В некоторых вариантах осуществления стандартная лекарственная форма представляет собой стеклянный флакон, предварительно заполненный шприц или автоинъектор.

[0045] В одном аспекте в настоящем изобретении представлен контейнер, содержащий композицию, содержащую фармацевтический состав, обсуждаемый выше или в данном документе. В различных вариантах осуществления контейнер представляет собой стеклянный флакон, предварительно заполненный шприц или автоинъектор.

[0046] В различных вариантах осуществления любые из признаков или компонентов вариантов осуществления, обсуждаемых выше или в данном документе, можно комбинировать, и такие комбинации охватываются объемом настоящего изобретения. Любое конкретное значение, обсуждаемое выше или в данном документе, можно комбинировать с другим связанным значением, обсуждаемым выше или в данном документе, для указания диапазона, при этом данные значения представляют верхний и нижний концы диапазона, и такие диапазоны, а также все значения, попадающие в пределы таких диапазонов, охватываются объемом настоящего изобретения. Каждое из значений, обсуждаемых выше или в данном документе, может быть выражено с вариацией, составляющей 1%, 5%, 10% или 20%. Например, концентрация 10 мМ может быть выражена в виде $10 \text{ мМ} \pm 0,1 \text{ мМ}$ (1% вариация), $10 \text{ мМ} \pm 0,5 \text{ мМ}$ (5% вариация), $10 \text{ мМ} \pm 1 \text{ мМ}$ (10% вариация) или $10 \text{ мМ} \pm 2 \text{ мМ}$ (20% вариация).

[0047] Другие варианты осуществления будут очевидны из обзора следующего подробного описания.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ГРАФИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ

[0048] На фигуре 1 проиллюстрирована взаимосвязь между относительной активностью mAb1 и уровнем гликирования HCDR3-Lys98. Уровни гликирования получали путем очистки гликированного и негликированного mAb1 с помощью

препаративной катионообменной хроматографии и смешивания обоих соединений в различных соотношениях. Данные касательно активности указывают на то, что активность зависит от уровня гликирования.

[0049] На фигурах 2A, 2B, 2C и 2D проиллюстрирован эффект pH в отношении уровня гликированных и высокомолекулярных (HMW) соединений в случае mAb1, составленного в гистидиновом буфере. Составы содержали 2 мг/мл mAb1 в 10 мМ гистидина, 10% вес/об. сахарозы и 0,05% вес/об. полисорбата 20 при различных значениях pH, и их инкубировали при 5°C в течение вплоть до 36 месяцев или при 25°C в течение вплоть до 2 месяцев. Уровни гликирования отслеживали с помощью катионообменной хроматографии (CEX-UPLC) при 5°C (фиг. 2A) или 25°C (фиг. 2B), а уровни HMW отслеживали с помощью эксклюзионной хроматографии (SE-UPLC) при 5°C (фиг. 2C) или 25°C (фиг. 2D).

[0050] На фигурах 3A и 3B проиллюстрирован эффект pH в отношении уровня гликированных и HMW-соединений в случае mAb1, составленного в ацетатном буфере. Составы содержали 50 мг/мл mAb1 в 10 мМ ацетата и 5% вес/об. сахарозы при различных значениях pH, и их инкубировали при 40°C в течение 28 дней. Уровни гликирования отслеживали с помощью CEX-UPLC (фиг. 3A), а уровни HMW отслеживали с помощью SE-UPLC (фиг. 3B).

[0051] На фигуре 4 проиллюстрирован эффект концентрации mAb1, концентрации сахарозы и концентрации аргинина в отношении вязкости составов на основе mAb1. На графиках представлено статистическое моделирование экспериментальных данных.

[0052] На фигуре 5 проиллюстрирован эффект концентрации mAb1, концентрации сахарозы и концентрации аргинина в отношении осмоляльности составов на основе mAb1. На графиках представлено статистическое моделирование экспериментальных данных.

[0053] На фигуре 6 проиллюстрирован эффект концентрации mAb1, концентрации сахарозы и концентрации аргинина в отношении стабильности составов на основе mAb1. На графиках представлено статистическое моделирование экспериментальных данных.

[0054] На фигурах 7A и 7B проиллюстрирована стабильность двух составов на основе mAb1 для подкожного введения. Оба состава демонстрируют сопоставимую стабильность в случае инкубации в тестируемых условиях: 3 месяца при 40°C/относительной влажности (RH) 75%; 6 месяцев при 25°C/RH 60% и 6 месяцев при 2-8°C. Как показано на фигурах, F1 содержит 150 мг/мл mAb1, 30 мМ ацетата при pH 5,0, 8% вес/об. сахарозы и 0,05% вес/об. полисорбата 80, а F2 содержит 150 мг/мл mAb1, 30 мМ ацетата при pH 5,0, 7% вес/об. сахарозы, 50 мМ аргинина и 0,05% вес/об. полисорбата 80.

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ

[0055] Перед приведением описания настоящего изобретения следует понимать, что настоящее изобретение не ограничивается конкретными описанными способами и экспериментальными условиями, поскольку такие способы и условия могут варьироваться. Также следует понимать, что терминология, используемая в данном

документе, предназначена только для целей описания конкретных вариантов осуществления и не подразумевается как ограничивающая, поскольку объем настоящего изобретения будет ограничен только прилагаемой формулой изобретения.

[0056] Если не указано иное, то все технические и научные термины, используемые в данном документе, имеют такое же значение, какое обычно понятно среднему специалисту в области техники, к которой относится настоящее изобретение. Используемый в данном документе термин «приблизительно» в случае его использования со ссылкой на конкретное указанное числовое значение или диапазон значений означает, что значение может отличаться от указанного значения на не более чем 1%. Например, используемое в данном документе выражение «приблизительно 100» включает 99 и 101 и все значения между ними (*например*, 99,1, 99,2, 99,3, 99,4 и т. д.).

[0057] Хотя при практическом осуществлении или тестировании настоящего изобретения можно применять любые способы и материалы, сходные с описанными в данном документе или эквивалентные им, в данном документе описаны только иллюстративные способы и материалы. Все патенты, заявки и непатентные публикации, упомянутые в настоящем описании, включены в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте.

ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЕ СОСТАВЫ

[0058] Используемое в данном документе выражение «фармацевтический состав» означает комбинацию из по меньшей мере одного активного ингредиента (*например*, биспецифического антитела к MUC16 и к CD3, которое способно оказывать биологический эффект у человека или животного, отличного от человека) и по меньшей мере одного неактивного ингредиента, который в комбинации с активным ингредиентом и/или одним или более дополнительными неактивными ингредиентами является подходящим для терапевтического введения человеку или животному, отличному от человека. Термин «состав», используемый в данном документе, означает «фармацевтический состав», если специально не указано иное. В настоящем изобретении представлены фармацевтические составы, содержащие по меньшей мере один терапевтический полипептид. В соответствии с определенными вариантами осуществления настоящего изобретения терапевтический полипептид представляет собой биспецифическое антитело, которое специфично связывается с MUC16 человека и CD3 человека, или его антигенсвязывающий фрагмент. Более конкретно, настоящее изобретение включает, *среди прочего*, фармацевтические составы, которые содержат: (i) человеческое биспецифическое антитело, которое специфично связывается с MUC16 человека и CD3 человека; (ii) буфер, содержащий ацетат; (iii) органический соразтворитель, содержащий полисорбат; и (iv) стабилизатор, содержащий сахар. Дополнительные компоненты могут быть включены в составы по настоящему изобретению, если такие компоненты значительно не препятствуют стабильности состава. Конкретные иллюстративные компоненты и составы, включенные в настоящее изобретение, подробно описаны ниже.

[0059] Фармацевтические составы по настоящему изобретению в определенных вариантах осуществления могут представлять собой текучие составы. Используемое в данном документе выражение «текучий состав» означает смесь из по меньшей мере двух компонентов, которая преимущественно существует в текучем состоянии при от приблизительно 2°C до приблизительно 45°C. Текучие составы включают, *среди прочего*, жидкие составы. Текучие составы могут характеризоваться низкой, умеренной или высокой вязкостью в зависимости от их конкретных составляющих.

БИСПЕЦИФИЧЕСКИЕ АНТИТЕЛА, КОТОРЫЕ СПЕЦИФИЧНО СВЯЗЫВАЮТ MUC16 ЧЕЛОВЕКА И CD3 ЧЕЛОВЕКА

[0060] Фармацевтические составы по настоящему изобретению могут содержать человеческое биспецифическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которые специфично связываются с MUC16 человека и CD3 человека.

[0061] Термин «антитело», используемый в данном документе, который включает «биспецифическое антитело», обычно подразумевается как обозначающий молекулы иммуноглобулинов, содержащие четыре полипептидные цепи - две тяжелые (H) цепи и две легкие (L) цепи, соединенные между собой дисульфидными связями, а также их мультимеры (*например*, IgM); однако молекулы иммуноглобулинов, состоящие только из тяжелых цепей (*т. е.* не имеющие легких цепей), также охватываются определением термина «антитело». Каждая тяжелая цепь содержит переменную область тяжелой цепи (сокращенно обозначаемую в данном документе как HCVR или VH) и константную область тяжелой цепи. Константная область тяжелой цепи содержит три домена: CH1, CH2 и CH3. Каждая легкая цепь содержит переменную область легкой цепи (сокращенно обозначаемую в данном документе как LCVR или VL) и константную область легкой цепи. Константная область легкой цепи содержит один домен (CL1). Области VH и VL могут быть дополнительно подразделены на области гипервариабельности, называемые областями, определяющими комплементарность (CDR), чередующиеся с областями, которые являются более консервативными, называемыми каркасными областями (FR). Каждая VH и VL состоит из трех CDR и четырех FR, расположенных от аминоконца к карбоксиконцу в следующем порядке: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4.

[0062] В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения биспецифические антитела к MUC16 и к CD3 по настоящему изобретению представляют собой человеческие антитела. Используемый в данном документе термин «человеческое антитело» подразумевается как включающий антитела, имеющие переменные и константные области, полученные из последовательностей человеческих иммуноглобулинов зародышевого типа. Человеческие антитела по настоящему изобретению могут содержать аминокислотные остатки, не кодируемые последовательностями человеческих иммуноглобулинов зародышевого типа (*например*, мутации, введенные с помощью случайного или сайт-специфического мутагенеза *in vitro* или посредством соматической мутации *in vivo*), например, в CDR, и в частности в CDR3.

Однако подразумевается, что термин «человеческое антитело», используемый в данном документе, не включает антитела, в которых последовательности CDR, полученные из последовательностей зародышевого типа другого вида млекопитающего, такого как мышь, были пересажены на человеческие последовательности каркасных областей. В различных вариантах осуществления биспецифическое антитело к MUC16 и к CD3 представляет собой человеческое антитело IgG. В различных вариантах осуществления биспецифическое антитело к MUC16 и к CD3 представляет собой человеческое антитело изотипа IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4 или смешанного изотипа. В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело к MUC16 и к CD3 представляет собой человеческое антитело IgG1 (*m. e.* антитело содержит константную область тяжелой цепи IgG1 человека, присоединенную соответственно к HCVR каждого из первого антигенсвязывающего домена и второго антигенсвязывающего домена). В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело к MUC16 и к CD3 представляет собой человеческое антитело IgG4 (*m. e.* антитело содержит константную область тяжелой цепи IgG4 человека, присоединенную соответственно к HCVR каждого из первого антигенсвязывающего домена и второго антигенсвязывающего домена). В любом из вариантов осуществления, обсуждаемых выше или в данном документе, биспецифическое антитело к MUC16 и к CD3 может содержать человеческую легкую каппа-цепь. В любом из вариантов осуществления, обсуждаемых выше или в данном документе, биспецифическое антитело к MUC16 и к CD3 может содержать человеческую легкую лямбда-цепь.

[0063] В любых вариантах осуществления биспецифическое антитело может содержать модификацию в одной или обеих тяжелых цепях для облегчения очистки биспецифического антитела (*m. e.* гетеродимера) от гомодимерных примесей. В некоторых вариантах осуществления биспецифические антитела содержат первую и вторую тяжелые цепи (*m. e.* тяжелую цепь MUC16-связывающего плеча и тяжелую цепь CD3-связывающего плеча), которые являются идентичными (*например*, обе относятся к изотипу IgG1 или IgG4), за исключением модификации в CH3-домене одной или другой тяжелых цепей, которая обеспечивает снижение связывания биспецифического антитела с белком А по сравнению с антителом, не имеющим модификации. В некоторых случаях CH3-домен первой тяжелой цепи (*например*, MUC16-связывающего плеча) связывает белок А, а CH3-домен второй тяжелой цепи (*например*, CD3-связывающего плеча) содержит мутацию, которая обеспечивает снижение или устранение связывания с белком А. В некоторых случаях мутация представляет собой модификацию H435R (по нумерации согласно EU; H95R по нумерации экзонов согласно IMGT). В некоторых случаях мутация представляет собой модификацию H435R (по нумерации согласно EU; H95R по нумерации экзонов согласно IMGT) и модификацию Y436F (по нумерации согласно EU; Y96F согласно IMGT). Дополнительные модификации, которые можно обнаружить во втором CH3-домене, включают: D356E, L358M, N384S, K392N, V397M и V422I согласно EU (D16E, L18M, N44S, K52N, V57M и V82I согласно IMGT) в случае CH3-доменов IgG1

и Q355R, N384S, K392N, V397M, R409K, E419Q и V422I согласно EU (Q15R, N44S, K52N, V57M, R69K, E79Q и V82I согласно IMGT) в случае CH3-доменов IgG4.

[0064] В любых вариантах осуществления биспецифическое антитело может содержать химерную шарнирную область. Термин «химерная шарнирная область» подразумевается как включающий химерный белок, содержащий первую аминокислотную последовательность, полученную из шарнирной области одной молекулы Ig, и вторую аминокислотную последовательность, полученную из шарнирной области молекулы Ig другого класса или подкласса. Например, химерная шарнирная область в одном варианте осуществления содержит первую аминокислотную последовательность или последовательность «верхней шарнирной области», полученную из шарнирной области IgG1 человека или шарнирной области IgG4 человека, и вторую аминокислотную последовательность или последовательность «нижней шарнирной области», полученную из шарнирной области IgG2 человека. В определенных вариантах осуществления первая последовательность или последовательность «верхней шарнирной области» содержит аминокислотные остатки, соответствующие положениям 216-227 в соответствии с нумерацией согласно EU. В некоторых вариантах осуществления вторая последовательность или последовательность «нижней шарнирной области» содержит аминокислотные остатки, соответствующие положениям 228-236 в соответствии с нумерацией согласно EU.

[0065] Антитела по настоящему изобретению в некоторых вариантах осуществления могут представлять собой рекомбинантные человеческие антитела. Подразумевается, что используемый в данном документе термин «рекомбинантное человеческое антитело» включает все человеческие антитела, полученные, экспрессированные, созданные или выделенные посредством рекомбинантных способов, такие как антитела, экспрессированные с применением рекомбинантного вектора экспрессии, введенного путем трансфекции в клетку-хозяина, антитела, выделенные из рекомбинантной комбинаторной библиотеки человеческих антител, антитела, выделенные из организма животного (*например*, мыши), которое является трансгенным по генам человеческих иммуноглобулинов (см., например, Taylor et al. (1992) Nucl. Acids Res. 20:6287-6295), или антитела, полученные, экспрессированные, созданные или выделенные посредством любых других способов, которые включают сплайсинг последовательностей генов человеческих иммуноглобулинов с другими последовательностями ДНК. Такие рекомбинантные человеческие антитела имеют переменные и константные области, полученные из последовательностей человеческих иммуноглобулинов зародышевого типа. Однако в определенных вариантах осуществления такие рекомбинантные человеческие антитела подвергаются мутагенезу *in vitro* (или, если используется животное, трансгенное по последовательностям человеческого Ig, соматическому мутагенезу *in vivo*), и, следовательно, аминокислотные последовательности областей V_H и V_L рекомбинантных антител представляют собой последовательности, которые, хотя и получены из последовательностей человеческих V_H и V_L зародышевого типа и

родственны им, могут не существовать в природе в репертуаре человеческих антител зародышевого типа *in vivo*.

[0066] Термины «антигенсвязывающая часть» или «антигенсвязывающий фрагмент» антитела (или просто «часть антитела» или «фрагмент антитела»), используемые в данном документе, относятся к одному или более фрагментам антитела, которые сохраняют способность специфично связываться с MUC16 человека или CD3 человека.

[0067] «Выделенное антитело», как используется в данном документе, подразумевается как обозначающее антитело, которое по сути не содержит других антител, имеющих другие антигенные специфичности (*например*, выделенное биспецифическое антитело, которое специфично связывает MUC16 человека и CD3 человека, по сути не содержит антител, которые специфично связывают антигены, отличные от MUC16 человека и CD3 человека).

[0068] Термин «специфично связывает» или ему подобный означает, что антитело или его антигенсвязывающий фрагмент образуют комплекс с антигеном, который является относительно стабильным в физиологических условиях. Специфичное связывание можно охарактеризовать с помощью константы диссоциации, составляющей по меньшей мере приблизительно 1×10^{-6} М или больше. Способы определения того, связываются ли специфично две молекулы, хорошо известны в данной области техники и включают, например, равновесный диализ, поверхностный плазмонный резонанс и т. п. Однако выделенное антитело, которое специфично связывает MUC16 человека и CD3 человека, может характеризоваться перекрестной реактивностью с другими антигенами, такими как молекулы MUC16 или CD3 из других видов (ортологи). В контексте настоящего изобретения считается, что полиспецифические (*например*, биспецифические) антитела, которые связываются с MUC16 человека и CD3 человека, а также одним или более дополнительными антигенами, «специфично связывают» MUC16 человека и CD3 человека. Более того, выделенное антитело может по сути не содержать другой клеточный материал и/или другие химические соединения.

[0069] Иллюстративные биспецифические антитела к MUC16 и к CD3, которые могут быть включены в фармацевтические составы по настоящему изобретению, изложены в WO 2018/067331, раскрытие которой включено посредством ссылки во всей своей полноте.

[0070] В соответствии с определенными вариантами осуществления настоящего изобретения биспецифическое антитело к MUC16 и к CD3 или его антигенсвязывающий фрагмент содержат первый антигенсвязывающий домен, который специфично связывает MUC16 человека, и второй антигенсвязывающий домен, который специфично связывает CD3 человека, при этом первый антигенсвязывающий домен содержит области, определяющие комплементарность (CDR), тяжелой цепи A1-HCDR1, A1-HCDR2 и A1-HCDR3, содержащие соответственно аминокислотные последовательности под SEQ ID NO: 7, 8 и 9, и второй антигенсвязывающий домен содержит CDR тяжелой цепи A2-

HCDR1, A2-HCDR2 и A2-HCDR3, содержащие соответственно аминокислотные последовательности под SEQ ID NO: 10, 11 и 12. В соответствии с определенными вариантами осуществления настоящего изобретения биспецифическое антитело к MUC16 и к CD3 или его антигенсвязывающий фрагмент содержат общие (как для первого, так и для второго антигенсвязывающих доменов) области, определяющие комплементарность, легкой цепи LCDR1-LCDR2-LCDR3, содержащие соответственно аминокислотные последовательности под SEQ ID NO: 13, 14 и 15.

[0071] В определенных вариантах осуществления биспецифическое антитело к MUC16 и к CD3 или его антигенсвязывающий фрагмент содержат первый антигенсвязывающий домен, который специфично связывает MUC16 человека, и второй антигенсвязывающий домен, который специфично связывает CD3 человека, при этом первый антигенсвязывающий домен содержит вариабельную область тяжелой цепи (HCVR), содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 4, и второй антигенсвязывающий домен содержит HCVR, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 5. В определенных вариантах осуществления биспецифическое антитело к MUC16 и к CD3 или его антигенсвязывающий фрагмент содержат общую вариабельную область легкой цепи (LCVR), содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 6. В определенных вариантах осуществления биспецифическое антитело к MUC16 и к CD3 или его антигенсвязывающий фрагмент содержат первый антигенсвязывающий домен, содержащий пару аминокислотных последовательностей HCVR/LCVR, содержащую аминокислотные последовательности под SEQ ID NO: 4/6, и второй антигенсвязывающий домен, содержащий пару аминокислотных последовательностей HCVR/LCVR, содержащую аминокислотные последовательности под SEQ ID NO: 5/6. В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело к MUC16 и к CD3 содержит пары последовательностей HCVR/LCVR, отмеченные выше, и константную область тяжелой цепи IgG1 человека. В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело к MUC16 и к CD3 содержит пары последовательностей HCVR/LCVR, отмеченные выше, и константную область тяжелой цепи IgG4 человека. В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело к MUC16 и к CD3 содержит пары последовательностей HCVR/LCVR, отмеченные выше, и константную область тяжелой цепи IgG человека. В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело к MUC16 и к CD3 содержит пары последовательностей HCVR/LCVR, отмеченные выше, и константную область тяжелой цепи IgG1 или IgG4 человека. В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело к MUC16 и к CD3 содержит первую тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 1, вторую тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 2, и общую легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 3. Биспецифическое антитело к MUC16 и к CD3, содержащее первый антигенсвязывающий домен, который специфично связывает MUC16 человека и содержит HCVR, содержащую

аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 4, и LCVR, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 6, и второй антигенсвязывающий домен, который специфично связывает CD3 человека и содержит HCVR, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 5, и LCVR, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 6, в данном документе называется mAb1. Это антитело имеет первую тяжелую цепь (включая HCVR, которая специфично связывает MUC16 человека), содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 1, вторую тяжелую цепь (включая HCVR, которая специфично связывает CD3 человека), содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 2, и общую легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 3. В некоторых случаях зрелая форма антитела может не содержать C-концевые лизиновые остатки из SEQ ID NO: 1 и 2. Таким образом, в некоторых случаях MUC16-связывающее плечо mAb1 содержит тяжелую цепь, содержащую остатки 1-442 из SEQ ID NO: 1, и CD3-связывающее плечо mAb1 содержит тяжелую цепь, содержащую остатки 1-449 из SEQ ID NO: 2.

[0072] Количество антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, содержащееся в фармацевтических составах по настоящему изобретению, может варьироваться в зависимости от требуемых конкретных свойств составов, а также конкретных обстоятельств и целей, для которых подразумевается применение составов. В определенных вариантах осуществления фармацевтические составы могут содержать от приблизительно 0,1 мг/мл до приблизительно 500 мг/мл антитела; от приблизительно 0,5 мг/мл до приблизительно 400 мг/мл антитела; от приблизительно 1 мг/мл до приблизительно 200 мг/мл антитела; от приблизительно 2 мг/мл до приблизительно 100 мг/мл; от приблизительно 1 мг/мл до приблизительно 5 мг/мл антитела; от приблизительно 10 мг/мл до приблизительно 30 мг/мл антитела; от приблизительно 75 мг/мл до приблизительно 125 мг/мл; от приблизительно 5 мг/мл до приблизительно 50 мг/мл; от приблизительно 4 мг/мл до приблизительно 60 мг/мл или от приблизительно 2 мг/мл до приблизительно 55 мг/мл антитела. Например, составы по настоящему изобретению могут представлять собой жидкие составы, которые содержат приблизительно 0,5 мг/мл; приблизительно 1 мг/мл; приблизительно 2 мг/мл; приблизительно 3 мг/мл; приблизительно 4 мг/мл; приблизительно 5 мг/мл; приблизительно 6 мг/мл; приблизительно 7 мг/мл; приблизительно 8 мг/мл; приблизительно 9 мг/мл; приблизительно 10 мг/мл; приблизительно 11 мг/мл; приблизительно 12 мг/мл; приблизительно 13 мг/мл; приблизительно 14 мг/мл; приблизительно 15 мг/мл; приблизительно 16 мг/мл; приблизительно 17 мг/мл; приблизительно 18 мг/мл; приблизительно 19 мг/мл; приблизительно 20 мг/мл; приблизительно 21 мг/мл; приблизительно 22 мг/мл; приблизительно 23 мг/мл; приблизительно 24 мг/мл; приблизительно 25 мг/мл; приблизительно 26 мг/мл; приблизительно 27 мг/мл; приблизительно 28 мг/мл; приблизительно 29 мг/мл; приблизительно 30 мг/мл; приблизительно 35 мг/мл; приблизительно 40 мг/мл;

приблизительно 45 мг/мл; приблизительно 50 мг/мл; приблизительно 55 мг/мл;
 приблизительно 60 мг/мл; приблизительно 65 мг/мл; приблизительно 70 мг/мл;
 приблизительно 75 мг/мл; приблизительно 80 мг/мл; приблизительно 85 мг/мл;
 приблизительно 90 мг/мл; приблизительно 95 мг/мл; приблизительно 96 мг/мл;
 приблизительно 97 мг/мл; приблизительно 98 мг/мл; приблизительно 99 мг/мл;
 приблизительно 100 мг/мл; приблизительно 101 мг/мл; приблизительно 102 мг/мл;
 приблизительно 103 мг/мл; приблизительно 104 мг/мл; приблизительно 105 мг/мл;
 приблизительно 110 мг/мл; приблизительно 115 мг/мл; приблизительно 120 мг/мл;
 приблизительно 125 мг/мл; приблизительно 130 мг/мл; приблизительно 135 мг/мл;
 приблизительно 140 мг/мл; приблизительно 145 мг/мл; приблизительно 150 мг/мл;
 приблизительно 155 мг/мл; приблизительно 160 мг/мл; приблизительно 165 мг/мл;
 приблизительно 170 мг/мл; приблизительно 175 мг/мл; приблизительно 180 мг/мл;
 приблизительно 185 мг/мл; приблизительно 190 мг/мл; приблизительно 195 мг/мл или
 приблизительно 200 мг/мл антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, которые
 специфично связываются с MUC16 человека и CD3 человека. В определенных вариантах
 осуществления фармацевтические составы представляют собой жидкие составы, которые
 могут содержать от $1 \pm 0,1$ мг/мл до 200 ± 20 мг/мл антитела; от $2 \pm 0,2$ мг/мл до 10 ± 1 мг/мл
 антитела; от $1 \pm 0,5$ мг/мл до 30 ± 5 мг/мл антитела; от 40 ± 4 мг/мл до 60 ± 6 мг/мл антитела;
 от $1 \pm 0,1$ мг/мл до $3 \pm 0,3$ мг/мл антитела; от $3 \pm 0,5$ мг/мл до $7 \pm 0,5$ мг/мл антитела; от 45 ± 1
 мг/мл до 55 ± 1 мг/мл антитела; от 140 ± 5 мг/мл до 160 ± 5 мг/мл антитела или от 175 ± 5
 мг/мл до 185 ± 5 мг/мл антитела. В некоторых вариантах осуществления фармацевтические
 составы содержат $5 \pm 0,5$ мг/мл антитела. В некоторых вариантах осуществления
 фармацевтические составы содержат 50 ± 5 мг/мл антитела. В некоторых вариантах
 осуществления фармацевтические составы содержат 150 ± 15 мг/мл антитела. В
 некоторых вариантах осуществления фармацевтические составы содержат $2 \pm 0,2$ мг/мл
 антитела. В некоторых вариантах осуществления фармацевтические составы содержат 20
 ± 2 мг/мл антитела. В некоторых вариантах осуществления фармацевтические составы
 содержат 180 ± 10 мг/мл антитела.

Биоэквиваленты

[0073] Настоящее изобретение охватывает антитела, имеющие аминокислотные
 последовательности, которые отличаются от последовательностей иллюстративных
 молекул, раскрытых в данном документе, но которые сохраняют способность связывать
 MUC16 человека и CD3 человека. Такие молекулы-варианты могут содержать одно или
 более добавлений, делеций или замен аминокислот по сравнению с исходной
 последовательностью, однако демонстрируют биологическую активность, которая
 практически эквивалентна активности антител, обсуждаемых в данном документе.

[0074] Настоящее изобретение включает антигенсвязывающие молекулы, которые
 являются биоэквивалентными любому из иллюстративных антител, приведенных в
 данном документе. Два антитела считаются биоэквивалентными, если, например, они
 являются фармацевтическими эквивалентами или фармацевтическими альтернативами, у

которых скорость и степень всасывания не демонстрируют значительного различия при введении в одной и той же молярной дозе в сходных экспериментальных условиях, будь то в однократной дозе или многократной дозе. Некоторые антитела будут считаться эквивалентами или фармацевтическими альтернативами, если они являются эквивалентными по степени их всасывания, но не по скорости их всасывания, и в то же время могут считаться биоэквивалентными, поскольку такие различия в скорости всасывания являются преднамеренными и отражены в информации по лекарственному препарату, не являются критически важными для достижения эффективных концентраций лекарственного средства в организме, *например*, при длительном применении, и считаются незначимыми с медицинской точки зрения для конкретного исследуемого лекарственного препарата.

[0075] В одном варианте осуществления два антитела являются биоэквивалентными, если отсутствуют клинически значимые различия с точки зрения их безопасности, чистоты и активности.

[0076] В одном варианте осуществления два антитела являются биоэквивалентными, если пациента можно перевести один или более раз между эталонным продуктом и биологическим продуктом без ожидаемого увеличения риска возникновения нежелательных эффектов, в том числе значимого с клинической точки зрения изменения иммуногенности, или уменьшения эффективности по сравнению с продолжением терапии без такого перевода.

[0077] Биоэквивалентность можно продемонстрировать с помощью способов *in vivo* и *in vitro*. Измерения биоэквивалентности включают, например, (a) тест *in vivo* с участием людей или других млекопитающих, в котором концентрацию антитела или его метаболитов измеряют в крови, плазме крови, сыворотке крови или другой биологической жидкости в зависимости от времени; (b) тест *in vitro*, который коррелировал с данными о биодоступности у человека *in vivo* и позволял их обоснованно предсказывать; (c) тест *in vivo* с участием людей или других млекопитающих, в котором соответствующий острый фармакологический эффект антитела (или его мишени) измеряют в зависимости от времени; и (d) строго контролируемое клиническое испытание, в котором устанавливают безопасность, эффективность или биодоступность или биоэквивалентность антигенсвязывающего белка.

ВСПОМОГАТЕЛЬНЫЕ ВЕЩЕСТВА И pH СОСТАВА

[0078] Фармацевтические составы по настоящему изобретению содержат одно или более вспомогательных веществ. Термин «вспомогательное вещество», используемый в данном документе, означает любое нетерапевтическое средство, добавляемое в состав для получения требуемых консистенции, вязкости или стабилизирующего эффекта.

[0079] В определенных вариантах осуществления фармацевтические составы по настоящему изобретению содержат один или более углеводов, *например*, один или более сахаров. Сахар может представлять собой восстанавливающий сахар или невосстанавливающий сахар. «Восстанавливающие сахара» включают, *например*, сахара с

кетонной или альдегидной группой и содержат реакционноспособную полуацетальную группу, которая позволяет сахару выступать в качестве восстановителя. Конкретные примеры восстанавливающих сахаров включают фруктозу, глюкозу, глицеральдегид, лактозу, арабинозу, маннозу, ксилозу, рибозу, рамнозу, галактозу и мальтозу. Невосстанавливающие сахара могут содержать аномерный атом углерода, представленный в ацетале, и по сути не способны вступать в реакцию с аминокислотами или полипептидами с иницированием реакции Майяра. Конкретные примеры восстанавливающих сахаров включают сахарозу, трегалозу, сорбозу, сукралозу, мелицитозу и раффинозу. Сахарные кислоты включают, например, сахаристые кислоты, глюконат и другие полигидроксисахара и их соли. В некоторых вариантах осуществления сахар представляет собой сахарозу. В некоторых случаях сахар (*например*, сахароза) выступает в качестве температурного стабилизатора биспецифического антитела к MUC16 и к CD3.

[0080] Количество сахара (*например*, сахарозы), содержащееся в фармацевтических составах по настоящему изобретению, будет варьироваться в зависимости от конкретных обстоятельств и предполагаемых целей, для которых применяются составы. В определенных вариантах осуществления составы могут содержать от приблизительно 0,1% до приблизительно 20% сахара; от приблизительно 0,5% до приблизительно 20% сахара; от приблизительно 1% до приблизительно 20% сахара; от приблизительно 2% до приблизительно 15% сахара; от приблизительно 5% до приблизительно 15% сахара; от приблизительно 7,5% до приблизительно 12,5% сахара или от приблизительно 9% до приблизительно 11% сахара. Например, фармацевтические составы по настоящему изобретению могут содержать приблизительно 0,5%; приблизительно 1,0%; приблизительно 1,5%; приблизительно 2,0%; приблизительно 2,5%; приблизительно 3,0%; приблизительно 3,5%; приблизительно 4,0%; приблизительно 4,5%; приблизительно 5,0%; приблизительно 5,5%; приблизительно 6,0%; приблизительно 6,5%; приблизительно 7,0%; приблизительно 7,5%; приблизительно 8,0%; приблизительно 8,5%; приблизительно 9,0%; приблизительно 9,5%; приблизительно 10,0%; приблизительно 10,5%; приблизительно 11,0%; приблизительно 11,5%; приблизительно 12,0%; приблизительно 12,5%; приблизительно 13,0%; приблизительно 13,5%; приблизительно 14,0%; приблизительно 14,5%; приблизительно 15% или приблизительно 20% сахара (*например*, сахарозы). В некоторых вариантах осуществления составы содержат приблизительно 10% сахара (*например*, сахарозы). В некоторых вариантах осуществления составы содержат приблизительно 5% сахара (*например*, сахарозы). Каждое из отмеченных выше значений процентного содержания соответствует процентному соотношению веса и объема (вес/об.). В некоторых случаях составы содержат от 5% ± 1% до 20% ± 4% вес/об. сахарозы. В некоторых случаях составы содержат от 5% до 10% вес/об. сахарозы. В некоторых случаях составы содержат от 8% ± 0,5% до 12% ± 0,5% вес/об. сахарозы. В некоторых случаях составы содержат 10% ± 1% вес/об. сахарозы.

[0081] Фармацевтические составы по настоящему изобретению также могут

содержать один или более органических соразтворителей (или стабилизаторов границы раздела фаз) такого типа и в таком количестве, которые стабилизируют биспецифическое антитело к MUC16 и к CD3 в условиях грубого обращения или взбалтывания, такого как, *например*, встряхивание на орбитальном шейкере. В некоторых вариантах осуществления органический соразтворитель представляет собой поверхностно-активное вещество. Используемый в данном документе термин «поверхностно-активное вещество» означает вещество, которое снижает поверхностное натяжение жидкости, в которой оно растворено, и/или снижает поверхностное натяжение на границе раздела фаз между маслом и водой. Поверхностно-активные вещества могут быть ионными или неионогенными. Иллюстративные неионогенные поверхностно-активные вещества, которые могут быть включены в составы по настоящему изобретению, включают, *например*, алкилполи(этиленоксид), алкилполиглюкозиды (*например*, октилглюкозид и децилмальтозид), жирные спирты, такие как цетиловый спирт и олеиловый спирт, кокамид-МЕА, кокамид-DEA и кокамид-TEA. Конкретные неионогенные поверхностно-активные вещества, которые могут быть включены в составы по настоящему изобретению, включают, *например*, полисорбаты, такие как полисорбат 20, полисорбат 28, полисорбат 40, полисорбат 60, полисорбат 65, полисорбат 80, полисорбат 81 и полисорбат 85; полуксамеры, такие как полуксамер 188 (также известный как Pluronic F68), полуксамер 407; полиэтиленполипропиленгликоль или полиэтиленгликоль (PEG). Полисорбат 20 также известен как TWEEN 20, сорбитанмонолаурат и полиоксиэтиленсорбитанмонолаурат. В некоторых вариантах осуществления поверхностно-активное вещество представляет собой полисорбат 20.

[0082] Количество поверхностно-активного вещества, содержащееся в фармацевтических составах по настоящему изобретению, может варьироваться в зависимости от требуемых конкретных свойств составов, а также конкретных обстоятельств и целей, для которых подразумевается применение составов. В определенных вариантах осуществления составы могут содержать от приблизительно 0,01% до приблизительно 1% поверхностно-активного вещества; от приблизительно 0,01% до приблизительно 0,5% поверхностно-активного вещества; от приблизительно 0,1% до приблизительно 0,3%; от приблизительно 0,15% до приблизительно 0,25% поверхностно-активного вещества или от приблизительно 0,19% до приблизительно 0,21% поверхностно-активного вещества. Например, составы по настоящему изобретению могут содержать приблизительно 0,01%; приблизительно 0,02%; приблизительно 0,03%; приблизительно 0,04%; приблизительно 0,05%; приблизительно 0,06%; приблизительно 0,07%; приблизительно 0,08%; приблизительно 0,09%; приблизительно 0,10%; приблизительно 0,11%; приблизительно 0,12%; приблизительно 0,13%; приблизительно 0,14%; приблизительно 0,15%; приблизительно 0,16%; приблизительно 0,17%; приблизительно 0,18%; приблизительно 0,19%; приблизительно 0,20%; приблизительно 0,21%; приблизительно 0,22%; приблизительно 0,23%; приблизительно 0,24%; приблизительно 0,25%; приблизительно 0,26%; приблизительно 0,27%; приблизительно

0,28%; приблизительно 0,29% или приблизительно 0,30% поверхностно-активного вещества (*например*, полисорбата 20). В некоторых вариантах осуществления составы содержат приблизительно 0,2% поверхностно-активного вещества (*например*, полисорбата 20). В некоторых вариантах осуществления составы содержат приблизительно 0,05% поверхностно-активного вещества (*например*, полисорбата 20). Каждое из отмеченных выше значений процентного содержания соответствует процентному соотношению веса и объема (вес/об.). В некоторых случаях составы содержат от $0,01\% \pm 0,005\%$ до $0,5\% \pm 0,25\%$ вес/об. полисорбата 20. В некоторых случаях составы содержат $0,2\% \pm 0,05\%$ вес/об. полисорбата 20. В некоторых случаях составы содержат $0,2\% \pm 0,01\%$ вес/об. полисорбата 20.

[0083] Фармацевтические составы по настоящему изобретению также могут содержать буфер или буферную систему, которые служат для поддержания стабильного pH и содействия стабилизации биспецифического антитела к MUC16 и к CD3. В некоторых вариантах осуществления буфер или буферная система содержит по меньшей мере один буфер, характеризующийся диапазоном буферизации, который полностью или частично перекрывается с диапазоном pH 4,5-5,5. В определенных вариантах осуществления буфер предусматривает ацетатный буфер (*например*, ацетат натрия). В определенных вариантах осуществления буфер (*например*, ацетат) присутствует в концентрации от приблизительно 1 мМ до приблизительно 50 мМ, от приблизительно 20 мМ до приблизительно 40 мМ, от приблизительно 25 мМ до приблизительно 35 мМ; от приблизительно 28 мМ до приблизительно 32 мМ или от приблизительно 29 мМ до приблизительно 31 мМ. В некоторых вариантах осуществления буфер (*например*, ацетат) присутствует в концентрации, составляющей приблизительно 20 мМ; приблизительно 21 мМ; приблизительно 22 мМ; приблизительно 23 мМ; приблизительно 24 мМ; приблизительно 25 мМ; приблизительно 26 мМ; приблизительно 27 мМ; приблизительно 28 мМ; приблизительно 29 мМ; приблизительно 30 мМ; приблизительно 31 мМ; приблизительно 32 мМ; приблизительно 33 мМ; приблизительно 34 мМ; приблизительно 35 мМ; приблизительно 36 мМ; приблизительно 37 мМ; приблизительно 38 мМ; приблизительно 39 мМ или приблизительно 40 мМ. В некоторых случаях буфер представляет собой гистидиновый буфер, присутствующий в концентрации, составляющей приблизительно 1 мМ; приблизительно 2 мМ; приблизительно 3 мМ; приблизительно 4 мМ; приблизительно 5 мМ; приблизительно 6 мМ; приблизительно 7 мМ; приблизительно 8 мМ; приблизительно 9 мМ; приблизительно 10 мМ; приблизительно 11 мМ; приблизительно 12 мМ; приблизительно 13 мМ; приблизительно 14 мМ; приблизительно 15 мМ; приблизительно 16 мМ; приблизительно 17 мМ; приблизительно 18 мМ; приблизительно 19 мМ или приблизительно 20 мМ. В некоторых случаях составы содержат гистидиновый буфер в концентрации от $5 \text{ мМ} \pm 1 \text{ мМ}$ до $15 \text{ мМ} \pm 3 \text{ мМ}$. В некоторых случаях составы содержат гистидиновый буфер в концентрации $10 \text{ мМ} \pm 1 \text{ мМ}$. В некоторых вариантах осуществления составы содержат ацетатный буфер (*например*, в любой из концентраций, обсуждаемых выше или в данном документе). В

некоторых вариантах осуществления составы содержат фосфатный буфер (*например*, в любой из концентраций, обсуждаемых выше или в данном документе).

[0084] В некоторых вариантах осуществления фармацевтические составы по настоящему изобретению также могут содержать аргинин. В некоторых случаях аргинин присутствует в концентрации от 1 до 100 мМ. В некоторых вариантах осуществления аргинин присутствует в концентрации от 25 до 75 мМ. В некоторых случаях аргинин присутствует в концентрации 50 мМ \pm 5 мМ. В одном варианте осуществления фармацевтический состав содержит 30 мМ \pm 3 мМ ацетата при pH 5,0 \pm 0,1, 7% \pm 0,7% вес/об. сахарозы, 0,05% \pm 0,01% вес/об. полисорбата (*например*, полисорбата 20) и 50 мМ \pm 5 мМ аргинина. В некоторых случаях антитело присутствует в концентрации от 1 мг/мл до 200 мг/мл или 150 мг/мл \pm 10 мг/мл.

[0085] В ходе процесса очистки антител может потребоваться или быть необходимой замена одного буфера на другой для достижения соответствующих концентраций вспомогательных веществ, концентрации антител, pH и т. д. Замену буфера можно осуществлять, *например*, путем ультрафильтрации/диализации (UF/DF) с применением, *например*, полупроницаемой мембраны для тангенциальной поточной фильтрации. Однако применение таких методик способно вызвать эффект Гиббса-Доннана [Bolton et al., 2011, Biotechnol. Prog. 27(1):140-152]. Накопление положительного заряда у мембраны со стороны продукта в ходе концентрирования белка электрически уравнивается преимущественным перемещением положительно заряженных ионов к противоположной стороне мембраны. Потенциальным следствием данного явления является то, что конечные концентрации определенных компонентов (*например*, ацетата) могут быть ниже предполагаемых целевых концентраций данных компонентов вследствие электростатического отталкивания положительно заряженных вспомогательных веществ диализационного буфера и положительно заряженного белка антитела в ходе стадии UF/DF. Таким образом, настоящее изобретение включает составы, в которых концентрация, *например*, ацетата отличается от указанных в данном документе количеств или диапазонов вследствие эффекта Гиббса-Доннана.

[0086] Посредством вытеснения объема описано поведение высококонцентрированных образцов, в которых значительная часть общего объема раствора поглощается растворенным веществом, особенно крупными молекулами, такими как белки, с вытеснением растворителя из данного пространства. В таком случае это обеспечивает уменьшение общего объема растворителя, доступного для растворения других растворенных веществ, что может привести к неравномерному распределению при прохождении через ультрафильтрационную мембрану. Таким образом, настоящее изобретение включает составы, в которых концентрация, *например*, ацетата может отличаться от указанных в данном документе количеств или диапазонов вследствие эффекта вытеснения объема.

[0087] В ходе изготовления составов по настоящему изобретению могут происходить вариации в композиции состава. Такие вариации могут охватывать

концентрацию активного ингредиента, концентрацию вспомогательных веществ и/или pH состава. Настоящее изобретение включает составы, содержащие биспецифические антитела к MUC16 и к CD3, которые являются стабильными и сохраняют активность при вплоть до по меньшей мере 10% вариации концентрации вспомогательных веществ. Например, в данный документ включены составы на основе биспецифических антител к MUC16 и к CD3, где стабильность и активность составов остается неизменной при $\pm 10\%$ или $\pm 20\%$ вариации концентрации антитела, сахарозы, ацетатного буфера и/или полисорбата.

СТАБИЛЬНОСТЬ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИХ СОСТАВОВ

[0088] Фармацевтические составы по настоящему изобретению демонстрируют высокие уровни стабильности. Термин «стабильный», используемый в данном документе в отношении фармацевтических составов, означает, что антитела в фармацевтических составах сохраняют структуру, и/или функцию, и/или биологическую активность в приемлемой степени после хранения в течение определенного промежутка времени. Состав может быть стабильным, даже если содержащееся в нем антитело не сохраняет на 100% свою структуру, и/или функцию, и/или биологическую активность после хранения в течение определенного промежутка времени. При определенных обстоятельствах «стабильным» может считаться сохранение приблизительно 90%, приблизительно 95%, приблизительно 96%, приблизительно 97%, приблизительно 98% или приблизительно 99% структуры, и/или функции, и/или биологической активности антитела после хранения в течение определенного промежутка времени.

[0089] Стабильность можно измерять, *среди прочего*, путем определения процентного содержания нативных антител, остающихся в составе после хранения в течение определенного промежутка времени при заданной температуре. Процентное содержание нативных антител можно определять, *среди прочего*, с помощью эксклюзионной хроматографии (*например*, эксклюзионной высокоэффективной жидкостной хроматографии [SE-HPLC]). Используемая в данном документе фраза «приемлемая степень стабильности» означает, что в составе после хранения в течение определенного промежутка времени при заданной температуре можно выявить по меньшей мере 90% нативной формы антитела. В определенных вариантах осуществления в составе после хранения в течение определенного промежутка времени при заданной температуре можно выявить по меньшей мере приблизительно 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% нативной формы антитела. Определенный промежуток времени, по истечении которого измеряют стабильность, может составлять по меньшей мере 1 месяц, по меньшей мере 2 месяца, по меньшей мере 3 месяца, по меньшей мере 4 месяца, по меньшей мере 5 месяцев, по меньшей мере 6 месяцев, по меньшей мере 7 месяцев, по меньшей мере 8 месяцев, по меньшей мере 9 месяцев, по меньшей мере 10 месяцев, по меньшей мере 11 месяцев, по меньшей мере 12 месяцев, по меньшей мере 18 месяцев, по меньшей мере 24 месяца, по меньшей мере 30 месяцев, по меньшей мере 36 месяцев или больше. Температура, при которой можно хранить

фармацевтический состав при оценке стабильности, может представлять собой любую температуру от приблизительно -80°C до приблизительно 45°C , *например*, в случае хранения при приблизительно -80°C , приблизительно -30°C , приблизительно -20°C , приблизительно 0°C , приблизительно $4-8^{\circ}\text{C}$, приблизительно 5°C , приблизительно 25°C , приблизительно 35°C , приблизительно 37°C или приблизительно 45°C . Например, фармацевтический состав может считаться стабильным, если после 3 месяцев хранения при 5°C выявляется более чем приблизительно 90%, 95%, 96% или 97% нативных антител посредством SE-HPLC. Фармацевтический состав также может считаться стабильным, если после 6 месяцев хранения при 5°C выявляется более чем приблизительно 90%, 95%, 96% или 97% нативных антител посредством SE-HPLC. Фармацевтический состав также может считаться стабильным, если после 9 месяцев хранения при 5°C выявляется более чем приблизительно 90%, 95%, 96%, 96,5%, 97%, 97,5%, 98%, 98,5%, 99% или 99,5% нативных антител посредством SE-HPLC. Фармацевтический состав также может считаться стабильным, если после 12 месяцев хранения при 5°C выявляется более чем приблизительно 90%, 95%, 96%, 96,5%, 97%, 97,5%, 98%, 98,5%, 99% или 99,5% нативных антител посредством SE-HPLC. Фармацевтический состав также может считаться стабильным, если после 24 месяцев хранения при 5°C выявляется более чем приблизительно 90%, 95%, 96%, 96,5%, 97%, 97,5%, 98%, 98,5%, 99% или 99,5% нативных антител посредством SE-HPLC. Фармацевтический состав также может считаться стабильным, если после 36 месяцев хранения при 5°C выявляется более чем приблизительно 90%, 95%, 96%, 96,5%, 97%, 97,5%, 98%, 98,5%, 99% или 99,5% нативных антител посредством SE-HPLC. Фармацевтический состав также может считаться стабильным, если после 3 месяцев хранения при 25°C (и необязательно относительной влажности 60%) выявляется более чем приблизительно 90%, 95%, 96%, 96,5%, 97%, 97,5%, 98%, 98,5%, 99% или 99,5% нативных антител посредством SE-HPLC. Фармацевтический состав также может считаться стабильным, если после 6 месяцев хранения при 25°C (и необязательно относительной влажности 60%) выявляется более чем приблизительно 90%, 95%, 96%, 96,5%, 97%, 97,5%, 98%, 98,5%, 99% или 99,5% нативных антител посредством SE-HPLC. Фармацевтический состав также может считаться стабильным, если после 9 месяцев хранения при 25°C (и необязательно относительной влажности 60%) выявляется более чем приблизительно 90%, 95%, 96%, 96,5%, 97%, 97,5%, 98%, 98,5%, 99% или 99,5% нативных антител посредством SE-HPLC. Фармацевтический состав также может считаться стабильным, если после 3 месяцев хранения при 37°C выявляется более чем приблизительно 90%, 95%, 96% или 97% нативных антител посредством SE-HPLC. Фармацевтический состав также может считаться стабильным, если после 1 месяца хранения при 45°C (и необязательно относительной влажности 75%) выявляется более чем приблизительно 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97% или 98% нативных антител посредством SE-HPLC.

[0090] Для оценки стабильности составов по настоящему изобретению можно применять и другие способы, такие как, *например*, дифференциальная сканирующая

калориметрия (DSC) для определения термической стабильности, контролируемое перемешивание для определения механической стабильности и оптическое поглощение при приблизительно 350 нм или приблизительно 405 нм для определения значений мутности растворов. Например, состав по настоящему изобретению может считаться стабильным, если после 6 или больше месяцев хранения при от приблизительно 5°C до приблизительно 25°C изменение OD₄₀₅ состава составляет менее чем приблизительно 0,05 (например, 0,04, 0,03, 0,02, 0,01 или меньше) относительно OD₄₀₅ состава при t=0.

[0091] Для оценки стабильности также можно применять измерение аффинности связывания антитела с его мишенью. Например, состав по настоящему изобретению может считаться стабильным, если после хранения при, например, -80°C, -30°C, -20°C, 5°C, 25°C, 37°C, 45°C и т. д. в течение определенного промежутка времени (например, от 14 дней до 9 месяцев) биспецифическое антитело к MUC16 и к CD3, содержащееся в составе, связывается с MUC16 человека и CD3 человека с аффинностью, которая составляет по меньшей мере 80%, 85%, 90%, 95% или больше от аффинности связывания антитела до указанного хранения. Аффинность связывания можно определять посредством любого способа, такого как, например, *ELISA* или плазмонный резонанс. Биологическую активность можно определять посредством анализа активности в отношении MUC16 или CD3, как например, путем приведения клетки, которая экспрессирует MUC16 или CD3, в контакт с составом, содержащим биспецифическое антитело к MUC16 и к CD3. Связывание антитела с такой клеткой можно измерить непосредственно, как, например, посредством FACS-анализа.

[0092] Стабильность можно измерять, *среди прочего*, путем определения процентного содержания антитела, которое образует агрегат (высокомолекулярное (HMW) соединение), в составе после хранения в течение определенного промежутка времени при определенной температуре, где стабильность обратно пропорциональна процентному содержанию образовавшегося агрегата. Процентное содержание агрегированного антитела можно определять, *среди прочего*, с помощью эксклюзионной хроматографии (например, эксклюзионной высокоэффективной жидкостной хроматографии [SE-HPLC] или эксклюзионной сверхэффективной жидкостной хроматографии [SE-UPLC]). Используемая в данном документе фраза «приемлемая степень стабильности» означает, что в составе после хранения в течение определенного промежутка времени при заданной температуре (вплоть до 25°C) выявляется не более 6% антител, находящихся в агрегированной форме. В определенных вариантах осуществления приемлемая степень стабильности означает, что в составе после хранения в течение определенного промежутка времени при заданной температуре можно выявить не более чем приблизительно 6%, 5%, 4%, 3%, 2%, 1%, 0,5% или 0,1% антител в агрегированном состоянии. Определенный промежуток времени, по истечении которого измеряют стабильность, может составлять по меньшей мере 2 недели, по меньшей мере 28 дней, по меньшей мере 1 месяц, по меньшей мере 2 месяца, по меньшей мере 3 месяца, по меньшей мере 4 месяца, по меньшей мере 5 месяцев, по меньшей мере 6 месяцев, по

меньшей мере 7 месяцев, по меньшей мере 8 месяцев, по меньшей мере 9 месяцев, по меньшей мере 10 месяцев, по меньшей мере 11 месяцев, по меньшей мере 12 месяцев, по меньшей мере 18 месяцев, по меньшей мере 24 месяца, по меньшей мере 30 месяцев, по меньшей мере 36 месяцев или больше. Температура, при которой можно хранить фармацевтический состав при оценке стабильности, может представлять собой любую температуру от приблизительно -80°C до приблизительно 45°C , *например*, в случае хранения при приблизительно -80°C , приблизительно -30°C , приблизительно -20°C , приблизительно 0°C , приблизительно $4-8^{\circ}\text{C}$, приблизительно 5°C , приблизительно 25°C , приблизительно 35°C , приблизительно 37°C или приблизительно 45°C . Например, фармацевтический состав может считаться стабильным, если после двенадцати месяцев хранения при 5°C выявляется менее чем приблизительно 3%, 2,75%, 2,5%, 2,25%, 2%, 1,75%, 1,5%, 1,25%, 1%, 0,75%, 0,5%, 0,25% или 0,1% антител в агрегированной форме. В некоторых случаях фармацевтический состав может считаться стабильным, если после шести месяцев хранения при 5°C выявляется менее чем приблизительно 5%, 4,75%, 4,5%, 4,25%, 4%, 3,75%, 3,5%, 3,25%, 2% или 1% антител в агрегированной форме. Фармацевтический состав также может считаться стабильным, если после шести месяцев хранения при 25°C и относительной влажности 60% выявляется менее чем приблизительно 6%, 5,75%, 5,5%, 5,25%, 5%, 4,5%, 4%, 3,5%, 3%, 2,5%, 2%, 1,75%, 1,5%, 1,25%, 1%, 0,75%, 0,5%, 0,25% или 0,1% антител в агрегированной форме. Фармацевтический состав также может считаться стабильным, если после трех месяцев хранения при 37°C выявляется менее чем приблизительно 6%, 5,75%, 5,5%, 5,25%, 5%, 4,5%, 4%, 3,5%, 3%, 2,5%, 2%, 1,75%, 1,5%, 1,25%, 1%, 0,75%, 0,5%, 0,25% или 0,1% антител в агрегированной форме. Фармацевтический состав также может считаться стабильным, если после двенадцати месяцев хранения при -30°C или -80°C выявляется менее чем приблизительно 3%, 2,75%, 2,5%, 2,25%, 2%, 1,9%, 1,8%, 1,7%, 1,6%, 1,5%, 1%, 0,5% или 0,1% антител в агрегированной форме.

[0093] Стабильность можно измерять, *среди прочего*, путем определения процентного содержания антитела, которое остается в форме гликированного соединения. Процентную долю «гликированного соединения» антитела можно определять с помощью ионообменной хроматографии (*например*, катионообменной высокоэффективной жидкостной хроматографии [CEX-HPLC] или катионообменной сверхэффективной жидкостной хроматографии [CEX-UPLC]) и/или с помощью LC-MS. Используемая в данном документе фраза «приемлемая степень стабильности» означает, что процентное изменение процентного содержания антитела в форме «гликированного соединения» не превышает указанное количество после хранения в течение определенного промежутка времени при определенной температуре. В определенных вариантах осуществления приемлемая степень стабильности означает, что изменение процентного содержания «гликированных соединений» составляет не более чем 25%, не более чем 20%, не более чем 15%, не более чем 10%, не более чем 9%, не более чем 8%, не более чем 7%, не более чем 6%, не более чем 5%, не более чем 4%, не более чем 3%, не более чем 2,5%, не более

чем 2%, не более чем 1,5% или не более чем 1% после хранения в течение определенного промежутка времени при заданной температуре. Определенный промежуток времени, по истечении которого измеряют стабильность, может составлять по меньшей мере 2 недели, по меньшей мере 28 дней, по меньшей мере 1 месяц, по меньшей мере 2 месяца, по меньшей мере 3 месяца, по меньшей мере 4 месяца, по меньшей мере 5 месяцев, по меньшей мере 6 месяцев, по меньшей мере 7 месяцев, по меньшей мере 8 месяцев, по меньшей мере 9 месяцев, по меньшей мере 10 месяцев, по меньшей мере 11 месяцев, по меньшей мере 12 месяцев, по меньшей мере 18 месяцев, по меньшей мере 24 месяца, по меньшей мере 30 месяцев, по меньшей мере 36 месяцев или больше. Температура, при которой можно хранить фармацевтический состав при оценке стабильности, может представлять собой любую температуру от приблизительно -80°C до приблизительно 45°C , например, в случае хранения при приблизительно -80°C , приблизительно -30°C , приблизительно -20°C , приблизительно 0°C , приблизительно $4-8^{\circ}\text{C}$, приблизительно 5°C , приблизительно 25°C или приблизительно 45°C . Например, фармацевтический состав может считаться стабильным, если после двенадцати месяцев хранения при -80°C или -30°C изменение процентного содержания «гликированных соединений» составляет не более чем 5%, не более чем 4%, не более чем 3%, не более чем 2% или не более чем 1,5%. В другом примере фармацевтический состав может считаться стабильным, если после шести месяцев хранения при 5°C изменение процентного содержания «гликированных соединений» составляет не более чем 5%, не более чем 4%, не более чем 3%, не более чем 2% или не более чем 1,5%. В другом примере фармацевтический состав может считаться стабильным, если после двенадцати месяцев хранения при 5°C изменение процентного содержания «гликированных соединений» составляет не более чем 5%, не более чем 4% или не более чем 3%. В каждом случае измерение можно проводить с применением катионообменной сверхэффективной жидкостной хроматографии (СЕХ-UPLC) и/или с помощью LC-MS.

[0094] Подразумевается, что ссылки на стабильность фармацевтических составов «по истечении» указанного периода времени означают, что измерение параметра стабильности (например, % нативных форм, % НМВ-соединений или % кислых форм) проводится в конце или приблизительно в конце конкретного периода времени, и не подразумевается, что они означают, что после этого в фармацевтическом составе обязательно поддерживается та же степень стабильности по измеренному параметру. Например, ссылка на конкретное значение стабильности через 12 месяцев означает, что измерение стабильности было проведено через 12 месяцев или приблизительно в этот момент времени после начала исследования. Дополнительные способы оценки стабильности антитела в составе продемонстрированы в представленных ниже примерах.

[0095] Как проиллюстрировано в примерах ниже, настоящее изобретение частично основано на обнаружении того, что комбинация заявленных вспомогательных веществ с биспецифическим антителом к MUC16 и к CD3 обеспечивает получение состава, который является стабильным.

ИЛЛЮСТРАТИВНЫЕ СОСТАВЫ

[0096] В соответствии с одним аспектом настоящего изобретения фармацевтический состав содержит: (i) человеческое биспецифическое антитело к MUC16 и к CD3, которое специфично связывается с MUC16 человека и CD3 человека; (ii) буфер, содержащий ацетат (*например*, ацетат натрия); (iii) органический соразтворитель, содержащий полисорбат; и (iv) стабилизатор, содержащий сахар. В соответствии с другим аспектом фармацевтический состав содержит: (i) человеческое биспецифическое антитело к MUC16 и к CD3, которое специфично связывается с MUC16 человека и CD3 человека; (ii) буфер, содержащий ацетат; и (iii) стабилизатор, содержащий сахар. В соответствии с другим аспектом фармацевтический состав содержит: (i) человеческое биспецифическое антитело к MUC16 и к CD3, которое специфично связывается с MUC16 человека и CD3 человека; (ii) буфер, содержащий гистидин; (iii) органический соразтворитель, содержащий полисорбат; и (iv) стабилизатор, содержащий сахар.

[0097] В некоторых случаях стабильный жидкий фармацевтический состав содержит (i) человеческое биспецифическое антитело, которое специфично связывается с MUC16 человека и CD3 человека и содержит первый антигенсвязывающий домен, который специфично связывает MUC16 человека, содержащий HCVR, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 4, и LCVR, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 6, и второй антигенсвязывающий домен, который специфично связывает CD3 человека, содержащий HCVR, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 5, и LCVR, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 6, в концентрации от приблизительно 1 мг/мл до приблизительно 200 мг/мл; (ii) ацетат в концентрации от приблизительно 25 мМ до приблизительно 35 мМ; (iii) полисорбат 20 в концентрации от приблизительно 0,1% вес/об. до приблизительно 0,3% вес/об. и (iv) сахарозу в концентрации от приблизительно 5% вес/об. до приблизительно 15% вес/об., где состав имеет pH $5,0 \pm 0,3$.

[0098] В некоторых случаях стабильный жидкий фармацевтический состав содержит (i) человеческое биспецифическое антитело, которое специфично связывается с MUC16 человека и CD3 человека и содержит первый антигенсвязывающий домен, который специфично связывает MUC16 человека, содержащий HCVR, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 4, и LCVR, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 6, и второй антигенсвязывающий домен, который специфично связывает CD3 человека, содержащий HCVR, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 5, и LCVR, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 6, в концентрации от приблизительно 1 мг/мл до приблизительно 200 мг/мл, где антитело имеет константные области тяжелой цепи изотипа IgG1 (при этом необязательно одна из двух тяжелых цепей имеет модификацию, которая обеспечивает снижение связывания с белком А по сравнению с немодифицированной тяжелой цепью того же изотипа, и при этом

необязательно одна или обе из двух тяжелых цепей имеют химерную шарнирную область); (ii) ацетат в концентрации от приблизительно 25 мМ до приблизительно 35 мМ; (iii) полисорбат 20 в концентрации от приблизительно 0,1% вес/об. до приблизительно 0,3% вес/об. и (iv) сахарозу в концентрации от приблизительно 5% вес/об. до приблизительно 15% вес/об., где состав имеет pH $5,0 \pm 0,3$.

[0099] В некоторых случаях стабильный жидкий фармацевтический состав содержит (i) человеческое биспецифическое антитело, которое специфично связывается с MUC16 человека и CD3 человека и содержит первый антигенсвязывающий домен, который специфично связывает MUC16 человека, содержащий HCVR, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 4, и LCVR, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 6, и второй антигенсвязывающий домен, который специфично связывает CD3 человека, содержащий HCVR, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 5, и LCVR, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 6, в концентрации от приблизительно 1 мг/мл до приблизительно 200 мг/мл, где антитело имеет константные области тяжелой цепи изотипа IgG4 (при этом необязательно одна из двух тяжелых цепей имеет модификацию, которая обеспечивает снижение связывания с белком А по сравнению с немодифицированной тяжелой цепью того же изотипа, и при этом необязательно одна или обе из двух тяжелых цепей имеют химерную шарнирную область); (ii) ацетат в концентрации от приблизительно 25 мМ до приблизительно 35 мМ; (iii) полисорбат 20 в концентрации от приблизительно 0,1% вес/об. до приблизительно 0,3% вес/об. и (iv) сахарозу в концентрации от приблизительно 5% вес/об. до приблизительно 15% вес/об., где состав имеет pH $5,0 \pm 0,3$.

[0100] В некоторых случаях стабильный жидкий фармацевтический состав содержит (i) человеческое биспецифическое антитело, которое специфично связывается с MUC16 человека и CD3 человека и содержит первую тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 1, вторую тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 2, и общую легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 3, в концентрации от приблизительно 1 мг/мл до приблизительно 200 мг/мл; (ii) ацетат в концентрации от приблизительно 25 мМ до приблизительно 35 мМ; (iii) полисорбат 20 в концентрации от приблизительно 0,1% вес/об. до приблизительно 0,3% вес/об. и (iv) сахарозу в концентрации от приблизительно 5% вес/об. до приблизительно 15% вес/об., где состав имеет pH $5,0 \pm 0,3$.

[0101] В некоторых случаях стабильный жидкий фармацевтический состав содержит (i) человеческое биспецифическое антитело, которое специфично связывается с MUC16 человека и CD3 человека и содержит первый антигенсвязывающий домен, который специфично связывает MUC16 человека, содержащий HCVR, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 4, и LCVR, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 6, и второй антигенсвязывающий

домен, который специфично связывает CD3 человека, содержащий HCVR, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 5, и LCVR, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 6, в концентрации от приблизительно 1 мг/мл до приблизительно 200 мг/мл; (ii) ацетат в концентрации от приблизительно 30 мМ ± 1 мМ; (iii) полисорбат 20 в концентрации от приблизительно 0,2% вес/об. ± 0,02% вес/об. и (iv) сахарозу в концентрации от приблизительно 10% вес/об. ± 1% вес/об., где состав имеет pH 5,0 ± 0,3.

[0102] В некоторых случаях стабильный жидкий фармацевтический состав содержит (i) человеческое биспецифическое антитело, которое специфично связывается с MUC16 человека и CD3 человека и содержит первый антигенсвязывающий домен, который специфично связывает MUC16 человека, содержащий HCVR, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 4, и LCVR, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 6, и второй антигенсвязывающий домен, который специфично связывает CD3 человека, содержащий HCVR, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 5, и LCVR, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 6, в концентрации от приблизительно 1 мг/мл до приблизительно 200 мг/мл, где антитело имеет константные области тяжелой цепи изотипа IgG1 (при этом необязательно одна из двух тяжелых цепей имеет модификацию, которая обеспечивает снижение связывания с белком А по сравнению с немодифицированной тяжелой цепью того же изотипа, и при этом необязательно одна или обе из двух тяжелых цепей имеют химерную шарнирную область); (ii) ацетат в концентрации от приблизительно 30 мМ ± 1 мМ; (iii) полисорбат 20 в концентрации от приблизительно 0,2% вес/об. ± 0,02% вес/об. и (iv) сахарозу в концентрации от приблизительно 10% вес/об. ± 1% вес/об., где состав имеет pH 5,0 ± 0,3.

[0103] В некоторых случаях стабильный жидкий фармацевтический состав содержит (i) человеческое биспецифическое антитело, которое специфично связывается с MUC16 человека и CD3 человека и содержит первый антигенсвязывающий домен, который специфично связывает MUC16 человека, содержащий HCVR, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 4, и LCVR, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 6, и второй антигенсвязывающий домен, который специфично связывает CD3 человека, содержащий HCVR, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 5, и LCVR, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 6, в концентрации от приблизительно 1 мг/мл до приблизительно 200 мг/мл, где антитело имеет константные области тяжелой цепи изотипа IgG4 (при этом необязательно одна из двух тяжелых цепей имеет модификацию, которая обеспечивает снижение связывания с белком А по сравнению с немодифицированной тяжелой цепью того же изотипа, и при этом необязательно одна или обе из двух тяжелых цепей имеют химерную шарнирную область); (ii) ацетат в концентрации от приблизительно 30 мМ ± 1 мМ; (iii) полисорбат 20 в концентрации от приблизительно 0,2% вес/об. ± 0,02% вес/об. и (iv) сахарозу в

концентрации от приблизительно 10% вес/об. \pm 1% вес/об., где состав имеет pH $5,0 \pm 0,3$.

[0104] В некоторых случаях стабильный жидкий фармацевтический состав содержит (i) человеческое биспецифическое антитело, которое специфично связывается с MUC16 человека и CD3 человека и содержит первую тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 1, вторую тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 2, и общую легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 3, в концентрации от приблизительно 1 мг/мл до приблизительно 200 мг/мл; (ii) ацетат в концентрации от приблизительно 30 мМ \pm 1 мМ; (iii) полисорбат 20 в концентрации от приблизительно 0,2% вес/об. \pm 0,02% вес/об. и (iv) сахарозу в концентрации от приблизительно 10% вес/об. \pm 1% вес/об., где состав имеет pH $5,0 \pm 0,3$.

[0105] В некоторых случаях стабильный жидкий фармацевтический состав содержит (i) человеческое биспецифическое антитело, которое специфично связывается с MUC16 человека и CD3 человека и содержит первый антигенсвязывающий домен, который специфично связывает MUC16 человека, содержащий HCVR, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 4, и LCVR, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 6, и второй антигенсвязывающий домен, который специфично связывает CD3 человека, содержащий HCVR, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 5, и LCVR, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 6, в концентрации от приблизительно 1 мг/мл до приблизительно 200 мг/мл; (ii) ацетат в концентрации от приблизительно 30 мМ; (iii) полисорбат 20 в концентрации от приблизительно 0,2% вес/об. и (iv) сахарозу в концентрации от приблизительно 10% вес/об., где состав имеет pH $5,0 \pm 0,1$.

[0106] В некоторых случаях стабильный жидкий фармацевтический состав содержит (i) человеческое биспецифическое антитело, которое специфично связывается с MUC16 человека и CD3 человека и содержит первый антигенсвязывающий домен, который специфично связывает MUC16 человека, содержащий HCVR, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 4, и LCVR, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 6, и второй антигенсвязывающий домен, который специфично связывает CD3 человека, содержащий HCVR, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 5, и LCVR, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 6, в концентрации от приблизительно 1 мг/мл до приблизительно 200 мг/мл, где антитело имеет константные области тяжелой цепи изотипа IgG1 (при этом необязательно одна из двух тяжелых цепей имеет модификацию, которая обеспечивает снижение связывания с белком А по сравнению с немодифицированной тяжелой цепью того же изотипа, и при этом необязательно одна или обе из двух тяжелых цепей имеют химерную шарнирную область); (ii) ацетат в концентрации от приблизительно 30 мМ; (iii) полисорбат 20 в концентрации от приблизительно 0,2% вес/об. и (iv) сахарозу в концентрации от

приблизительно 10% вес/об., где состав имеет pH $5,0 \pm 0,1$.

[0107] В некоторых случаях стабильный жидкий фармацевтический состав содержит (i) человеческое биспецифическое антитело, которое специфично связывается с MUC16 человека и CD3 человека и содержит первый антигенсвязывающий домен, который специфично связывает MUC16 человека, содержащий HCVR, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 4, и LCVR, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 6, и второй антигенсвязывающий домен, который специфично связывает CD3 человека, содержащий HCVR, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 5, и LCVR, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 6, в концентрации от приблизительно 1 мг/мл до приблизительно 200 мг/мл, где антитело имеет константные области тяжелой цепи изотипа IgG4 (при этом необязательно одна из двух тяжелых цепей имеет модификацию, которая обеспечивает снижение связывания с белком А по сравнению с немодифицированной тяжелой цепью того же изотипа, и при этом необязательно одна или обе из двух тяжелых цепей имеют химерную шарнирную область); (ii) ацетат в концентрации от приблизительно 30 мМ; (iii) полисорбат 20 в концентрации от приблизительно 0,2% вес/об. и (iv) сахарозу в концентрации от приблизительно 10% вес/об., где состав имеет pH $5,0 \pm 0,1$.

[0108] В некоторых случаях стабильный жидкий фармацевтический состав содержит (i) человеческое биспецифическое антитело, которое специфично связывается с MUC16 человека и CD3 человека и содержит первую тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 1, вторую тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 2, и общую легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 3, в концентрации от приблизительно 1 мг/мл до приблизительно 200 мг/мл; (ii) гистидин в концентрации 10 мМ; (iii) ацетат в концентрации от приблизительно 30 мМ; (iii) полисорбат 20 в концентрации от приблизительно 0,2% вес/об. и (iv) сахарозу в концентрации от приблизительно 10% вес/об., где состав имеет pH $5,0 \pm 0,1$.

[0109] В некоторых случаях стабильный жидкий фармацевтический состав содержит (i) человеческое биспецифическое антитело, которое специфично связывается с MUC16 человека и CD3 человека и содержит первый антигенсвязывающий домен, который специфично связывает MUC16 человека, содержащий HCVR, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 4, и LCVR, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 6, и второй антигенсвязывающий домен, который специфично связывает CD3 человека, содержащий HCVR, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 5, и LCVR, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 6, в концентрации от 3 мг/мл \pm 1 мг/мл до 7 мг/мл \pm 1 мг/мл; (ii) ацетат в концентрации от приблизительно 30 мМ \pm 1 мМ; (iii) полисорбат 20 в концентрации от приблизительно 0,2% вес/об. \pm 0,02% вес/об. и (iv) сахарозу в концентрации от приблизительно 10% вес/об. \pm 1% вес/об., где состав имеет pH

5,0 ± 0,3.

[0110] В некоторых случаях стабильный жидкий фармацевтический состав содержит (i) человеческое биспецифическое антитело, которое специфично связывается с MUC16 человека и CD3 человека и содержит первый антигенсвязывающий домен, который специфично связывает MUC16 человека, содержащий HCVR, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 4, и LCVR, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 6, и второй антигенсвязывающий домен, который специфично связывает CD3 человека, содержащий HCVR, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 5, и LCVR, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 6, в концентрации 5 мг/мл ± 0,5 мг/мл; (ii) ацетат в концентрации от приблизительно 30 мМ ± 1 мМ; (iii) полисорбат 20 в концентрации от приблизительно 0,2% вес/об. ± 0,02% вес/об. и (iv) сахарозу в концентрации от приблизительно 10% вес/об. ± 1% вес/об., где состав имеет pH 5,0 ± 0,3.

[0111] В некоторых случаях стабильный жидкий фармацевтический состав содержит (i) человеческое биспецифическое антитело, которое специфично связывается с MUC16 человека и CD3 человека и содержит первый антигенсвязывающий домен, который специфично связывает MUC16 человека, содержащий HCVR, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 4, и LCVR, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 6, и второй антигенсвязывающий домен, который специфично связывает CD3 человека, содержащий HCVR, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 5, и LCVR, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 6, в концентрации от 40 мг/мл ± 2 мг/мл до 60 мг/мл ± 2 мг/мл; (ii) ацетат в концентрации от приблизительно 30 мМ ± 1 мМ; (iii) полисорбат 20 в концентрации от приблизительно 0,2% вес/об. ± 0,02% вес/об. и (iv) сахарозу в концентрации от приблизительно 10% вес/об. ± 1% вес/об., где состав имеет pH 5,0 ± 0,3.

[0112] В некоторых случаях стабильный жидкий фармацевтический состав содержит (i) человеческое биспецифическое антитело, которое специфично связывается с MUC16 человека и CD3 человека и содержит первый антигенсвязывающий домен, который специфично связывает MUC16 человека, содержащий HCVR, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 4, и LCVR, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 6, и второй антигенсвязывающий домен, который специфично связывает CD3 человека, содержащий HCVR, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 5, и LCVR, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 6, в концентрации 50 мг/мл ± 5 мг/мл; (ii) ацетат в концентрации от приблизительно 30 мМ ± 1 мМ; (iii) полисорбат 20 в концентрации от приблизительно 0,2% вес/об. ± 0,02% вес/об. и (iv) сахарозу в концентрации от приблизительно 10% вес/об. ± 1% вес/об., где состав имеет pH 5,0 ± 0,3.

[0113] В некоторых случаях стабильный жидкий фармацевтический состав содержит (i) человеческое биспецифическое антитело, которое специфично связывается с

MUC16 человека и CD3 человека и содержит первый антигенсвязывающий домен, который специфично связывается с MUC16 человека, содержащий HCVR, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 4, и LCVR, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 6, и второй антигенсвязывающий домен, который специфично связывает CD3 человека, содержащий HCVR, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 5, и LCVR, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 6, в концентрации от 5 мг/мл \pm 0,5 мг/мл, где антитело имеет константные области тяжелой цепи изотипа IgG4 (при этом необязательно одна из двух тяжелых цепей имеет модификацию, которая обеспечивает снижение связывания с белком А по сравнению с немодифицированной тяжелой цепью того же изотипа, и при этом необязательно одна или обе из двух тяжелых цепей имеют химерную шарнирную область); (ii) ацетат в концентрации от приблизительно 30 мМ \pm 1 мМ; (iii) полисорбат 20 в концентрации от приблизительно 0,2% вес/об. \pm 0,02% вес/об. и (iv) сахарозу в концентрации от приблизительно 10% вес/об. \pm 1% вес/об., где состав имеет pH 5,0 \pm 0,3.

[0114] В некоторых случаях стабильный жидкий фармацевтический состав содержит (i) человеческое биспецифическое антитело, которое специфично связывается с MUC16 человека и CD3 человека и содержит первый антигенсвязывающий домен, который специфично связывается с MUC16 человека, содержащий HCVR, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 4, и LCVR, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 6, и второй антигенсвязывающий домен, который специфично связывает CD3 человека, содержащий HCVR, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 5, и LCVR, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 6, в концентрации 50 мг/мл \pm 5 мг/мл, где антитело имеет константные области тяжелой цепи изотипа IgG4 (при этом необязательно одна из двух тяжелых цепей имеет модификацию, которая обеспечивает снижение связывания с белком А по сравнению с немодифицированной тяжелой цепью того же изотипа, и при этом необязательно одна или обе из двух тяжелых цепей имеют химерную шарнирную область); (ii) ацетат в концентрации от приблизительно 30 мМ \pm 1 мМ; (iii) полисорбат 20 в концентрации от приблизительно 0,2% вес/об. \pm 0,02% вес/об. и (iv) сахарозу в концентрации от приблизительно 10% вес/об. \pm 1% вес/об., где состав имеет pH 5,0 \pm 0,3.

[0115] В некоторых случаях стабильный жидкий фармацевтический состав содержит (i) человеческое биспецифическое антитело, которое специфично связывается с MUC16 человека и CD3 человека и содержит первый антигенсвязывающий домен, который специфично связывается с MUC16 человека, содержащий HCVR, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 4, и LCVR, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 6, и второй антигенсвязывающий домен, который специфично связывает CD3 человека, содержащий HCVR, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 5, и LCVR, содержащую

аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 6, в концентрации от 5 мг/мл \pm 0,5 мг/мл, где антитело имеет константные области тяжелой цепи изотипа IgG4, и где одна из двух тяжелых цепей имеет модификацию (*например*, H435R и Y436F по нумерации согласно EU) в СНЗ-домене, которая обеспечивает снижение связывания с белком А по сравнению с немодифицированным СНЗ-доменом IgG4; (ii) ацетат в концентрации от приблизительно 30 мМ \pm 1 мМ; (iii) полисорбат 20 в концентрации от приблизительно 0,2% вес/об. \pm 0,02% вес/об. и (iv) сахарозу в концентрации от приблизительно 10% вес/об. \pm 1% вес/об., где состав имеет рН 5,0 \pm 0,3.

[0116] В некоторых случаях стабильный жидкий фармацевтический состав содержит (i) человеческое биспецифическое антитело, которое специфично связывается с MUC16 человека и CD3 человека и содержит первый антигенсвязывающий домен, который специфично связывается с MUC16 человека, содержащий HCVR, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 4, и LCVR, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 6, и второй антигенсвязывающий домен, который специфично связывает CD3 человека, содержащий HCVR, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 5, и LCVR, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 6, в концентрации 50 мг/мл \pm 0,5 мг/мл, где антитело имеет константные области тяжелой цепи изотипа IgG4, и где одна из двух тяжелых цепей имеет модификацию (*например*, H435R и Y436F по нумерации согласно EU) в СНЗ-домене, которая обеспечивает снижение связывания с белком А по сравнению с немодифицированным СНЗ-доменом IgG4; (ii) ацетат в концентрации от приблизительно 30 мМ \pm 1 мМ; (iii) полисорбат 20 в концентрации от приблизительно 0,2% вес/об. \pm 0,02% вес/об. и (iv) сахарозу в концентрации от приблизительно 10% вес/об. \pm 1% вес/об., где состав имеет рН 5,0 \pm 0,3.

[0117] В некоторых случаях стабильный жидкий фармацевтический состав содержит (i) человеческое биспецифическое антитело, которое специфично связывается с MUC16 человека и CD3 человека и содержит первую тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 1, вторую тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 2, и общую легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 3, в концентрации от 5 мг/мл \pm 0,5 мг/мл; (ii) ацетат в концентрации от приблизительно 30 мМ \pm 1 мМ; (iii) полисорбат 20 в концентрации от приблизительно 0,2% вес/об. \pm 0,02% вес/об. и (iv) сахарозу в концентрации от приблизительно 10% вес/об. \pm 1% вес/об., где состав имеет рН 5,0 \pm 0,3.

[0118] В некоторых случаях стабильный жидкий фармацевтический состав содержит (i) человеческое биспецифическое антитело, которое специфично связывается с MUC16 человека и CD3 человека и содержит первую тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 1, вторую тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 2, и общую легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 3, в

концентрации 50 мг/мл \pm 5 мг/мл; (ii) ацетат в концентрации от приблизительно 30 мМ \pm 1 мМ; (iii) полисорбат 20 в концентрации от приблизительно 0,2% вес/об. \pm 0,02% вес/об. и (iv) сахарозу в концентрации от приблизительно 10% вес/об. \pm 1% вес/об., где состав имеет рН 5,0 \pm 0,3.

[0119] В некоторых случаях стабильный жидкий фармацевтический состав содержит (i) человеческое биспецифическое антитело, которое специфично связывается с MUC16 человека и CD3 человека и содержит первый антигенсвязывающий домен, который специфично связывается с MUC16 человека, содержащий HCVR, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 4, и LCVR, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 6, и второй антигенсвязывающий домен, который специфично связывает CD3 человека, содержащий HCVR, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 5, и LCVR, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 6, в концентрации от приблизительно 1 мг/мл до приблизительно 3 мг/мл; (ii) гистидин в концентрации от приблизительно 10 мМ \pm 1 мМ; (iii) полисорбат 20 в концентрации от приблизительно 0,05% вес/об. \pm 0,01% вес/об. и (iv) сахарозу в концентрации от приблизительно 10% вес/об. \pm 1% вес/об., где состав имеет рН 6,0 \pm 0,3.

[0120] В некоторых случаях стабильный жидкий фармацевтический состав содержит (i) человеческое биспецифическое антитело, которое специфично связывается с MUC16 человека и CD3 человека и содержит первый антигенсвязывающий домен, который специфично связывается с MUC16 человека, содержащий HCVR, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 4, и LCVR, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 6, и второй антигенсвязывающий домен, который специфично связывает CD3 человека, содержащий HCVR, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 5, и LCVR, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 6, в концентрации от приблизительно 150 мг/мл до приблизительно 200 мг/мл; (ii) ацетат в концентрации от приблизительно 30 мМ \pm 1 мМ и (iii) сахарозу в концентрации от приблизительно 5% вес/об. \pm 0,5% вес/об., где состав имеет рН 5,0 \pm 0,3.

[0121] В любом из этих иллюстративных составов термин «стабильный» может быть определен следующим образом: (a) состав содержит не более чем 2,5% высокомолекулярных (HMW) соединений после 12 месяцев хранения при 5°C, как определено с помощью SE-UPLC; (b) состав содержит не более чем 3,5% высокомолекулярных (HMW) соединений после 6 месяцев хранения при 25°C и относительной влажности 60%, как определено с помощью SE-UPLC; (c) состав содержит не более чем 1,5% высокомолекулярных (HMW) соединений после 12 месяцев хранения при -30°C, как определено с помощью SE-UPLC; (d) состав содержит не более чем 1,5% высокомолекулярных (HMW) соединений после 12 месяцев хранения при -80°C, как определено с помощью SE-UPLC; (e) по меньшей мере 95% антитела характеризуются нативной конформацией после 12 месяцев хранения при 5°C, как определено с помощью

SE-UPLC; (f) по меньшей мере 95% антитела характеризуются нативной конформацией после 6 месяцев хранения при 25°C и относительной влажности 60%, как определено с помощью SE-UPLC; (g) по меньшей мере 95% антитела характеризуются нативной конформацией после 3 месяцев хранения при 37°C, как определено с помощью SE-UPLC; (h) состав содержит не более чем 1% высокомолекулярных (HMW) соединений после 12 месяцев хранения при 5°C, как определено с помощью SE-UPLC; (i) состав содержит не более чем 1% HMW-соединений после 6 месяцев хранения при 25°C и относительной влажности 60%, как определено с помощью SE-UPLC; (j) состав содержит не более чем 1% HMW-соединений после 3 месяцев хранения при 37°C; как определено с помощью SE-UPLC; (k) состав содержит не более чем 2% высокомолекулярных (HMW) соединений после 12 месяцев хранения при -30°C или -80°C, как определено с помощью SE-UPLC; (l) состав содержит не более чем 4% HMW-соединений после 6 месяцев хранения при 5°C, как определено с помощью SE-UPLC; или (m) состав содержит не более чем 6% HMW-соединений после 6 месяцев хранения при 25°C и относительной влажности 60%, как определено с помощью SE-UPLC.

[0122] В любом из этих иллюстративных составов биспецифическое антитело может содержать модификацию в одной или обеих тяжелых цепях для облегчения очистки биспецифического антитела (*т. е.* гетеродимера) от гомодимерных примесей. В некоторых вариантах осуществления биспецифические антитела содержат первую и вторую тяжелые цепи (*т. е.* тяжелую цепь MUC16-связывающего плеча и тяжелую цепь CD3-связывающего плеча), которые являются идентичными (*например*, обе относятся к изотипу IgG1 или IgG4), за исключением модификации в CH3-домене одной или другой тяжелых цепей, которая обеспечивает снижение связывания биспецифического антитела с белком А по сравнению с антителом, не имеющим модификации. В некоторых случаях CH3-домен первой тяжелой цепи (*например*, MUC16-связывающего плеча) связывает белок А, а CH3-домен второй тяжелой цепи (*например*, CD3-связывающего плеча) содержит мутацию, которая обеспечивает снижение или устранение связывания с белком А. В некоторых случаях мутация представляет собой модификацию H435R (по нумерации согласно EU; H95R по нумерации экзонов согласно IMGT). В некоторых случаях мутация представляет собой модификацию H435R (по нумерации согласно EU; H95R по нумерации экзонов согласно IMGT) и модификацию Y436F (по нумерации согласно EU; Y96F согласно IMGT). Дополнительные модификации, которые можно обнаружить во втором CH3-домене, включают: D356E, L358M, N384S, K392N, V397M и V422I согласно EU (D16E, L18M, N44S, K52N, V57M и V82I согласно IMGT) в случае CH3-доменов IgG1 и Q355R, N384S, K392N, V397M, R409K, E419Q и V422I согласно EU (Q15R, N44S, K52N, V57M, R69K, E79Q и V82I согласно IMGT) в случае CH3-доменов IgG4.

[0123] Дополнительные неограничивающие примеры фармацевтических составов, охватываемых настоящим изобретением, изложены в других местах данного документа, включая представленные ниже демонстрационные примеры.

КОНТЕЙНЕРЫ И СПОСОБЫ ВВЕДЕНИЯ

[0124] Фармацевтические составы по настоящему изобретению могут содержаться в любом контейнере, подходящем для хранения лекарственных препаратов и других терапевтических композиций. Например, фармацевтические составы могут содержаться в герметичном и стерилизованном пластмассовом или стеклянном контейнере определенного объема, таком как флакон, ампула, шприц, картридж, бутылка или пакет для IV вливания. Для хранения составов по настоящему изобретению можно использовать различные типы флаконов, включая, *например*, прозрачные и непрозрачные (*например*, из темного стекла) стеклянные или пластмассовые флаконы. Аналогично для хранения и/или введения фармацевтических составов по настоящему изобретению можно использовать любой тип шприца. В некоторых вариантах осуществления фармацевтический состав содержится в предварительно заполненном шприце. В некоторых вариантах осуществления фармацевтический состав содержится в предварительно заполненном шприце с несъемной иглой.

[0125] Фармацевтические составы по настоящему изобретению могут содержаться в шприцах «со стандартным содержанием вольфрама» или шприцах «с низким содержанием вольфрама». Средним специалистам в данной области техники будет понятно, что способ изготовления стеклянных шприцев обычно включает применение горячего вольфрамового стержня, действие которого заключается в прокалывании стекла, за счет чего создается отверстие, через которое можно втягивать жидкости в шприц и выталкивать их из него. Данный способ приводит к отложению следовых количеств вольфрама на внутренней поверхности шприца. Для снижения количества вольфрама в шприце можно использовать последующие стадии промывки и другой обработки. Используемый в данном документе термин «со стандартным содержанием вольфрама» означает, что шприц содержит более чем 500 частей на миллиард (ppb) вольфрама. Термин «с низким содержанием вольфрама» означает что шприц содержит менее 500 ppb вольфрама. Например, шприц с низким содержанием вольфрама в соответствии с настоящим изобретением может содержать менее чем приблизительно 490, 480, 470, 460, 450, 440, 430, 420, 410, 390, 350, 300, 250, 200, 150, 100, 90, 80, 70, 60, 50, 40, 30, 20, 10 ppb вольфрама или меньше.

[0126] На резиновые поршни, используемые в шприцах, и резиновые пробки, используемые для закрывания отверстий флаконов, может быть нанесено покрытие для предотвращения контаминации лекарственного содержимого шприца или флакона и/или для сохранения их стабильности. Таким образом, фармацевтические составы по настоящему изобретению в соответствии с определенными вариантами осуществления могут содержаться в шприце, который содержит поршень с покрытием, или во флаконе, закрытом резиновой пробкой с покрытием. Например, поршень или пробка могут быть покрыты фторуглеродной пленкой. Примеры пробок и/или поршней с покрытием, подходящих для использования с флаконами и шприцами, содержащими фармацевтические составы по настоящему изобретению, упомянуты, *например*, в патентах США №№ 4997423, 5908686, 6286699, 6645635 и 7226554, содержание которых

включено в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте. Конкретные иллюстративные резиновые пробки и поршни с покрытием, которые можно использовать в контексте настоящего изобретения, коммерчески доступны под торговым наименованием «FluroTec®», доступным от West Pharmaceutical Services, Inc. (Лайонвилл, Пенсильвания). FluroTec® является примером фторуглеродного покрытия, используемого для минимизации или предотвращения прилипания лекарственного препарата к резиновым поверхностям. В соответствии с определенными вариантами осуществления настоящего изобретения фармацевтические составы могут содержаться в шприце с низким содержанием вольфрама, который содержит поршень с фторуглеродным покрытием. В некоторых вариантах осуществления контейнер представляет собой шприц, такой как шприц Omri EZ-Fill™ или шприц BD Neopak™. В некоторых случаях шприц представляет собой длинный стеклянный шприц на 1 мл с плунжером iWest на 1 мл, тонкостенной иглой 27G и защитным колпачком для иглы FM30 или защитным колпачком для иглы BD260. В некоторых случаях шприц представляет собой стеклянный шприц на 2,25 мл с плунжером West NovaPure™ на 1-3 мл, тонкостенной иглой 27G и защитным колпачком для иглы FM30 или защитным колпачком для иглы BD260. В различных вариантах осуществления шприц представляет собой шприц (*например*, стеклянный шприц) на 0,5 мл, 0,6 мл, 0,7 мл, 0,8 мл, 0,9 мл, 1,0 мл, 1,1 мл, 1,2 мл, 1,3 мл, 1,4 мл, 1,5 мл, 1,6 мл, 1,7 мл, 1,8 мл, 1,9 мл, 2,0 мл, 2,1 мл, 2,2 мл, 2,3 мл, 2,4 мл, 2,5 мл, 2,6 мл, 2,7 мл, 2,8 мл, 2,9 мл, 3,0 мл, 3,5 мл, 4,0 мл, 4,5 мл, 5,0 мл, 5,5 мл, 6,0 мл, 6,5 мл, 7,0 мл, 7,5 мл, 8,0 мл, 8,5 мл, 9,0 мл, 9,5 мл или 10 мл.

[0127] Фармацевтические составы можно вводить пациенту парентеральными путями, такими как инъекция (*например*, подкожная, внутривенная, внутримышечная, внутрибрюшинная и т. д.) или чрескожное, чресслизистое, назальное, легочное и/или пероральное введение. Для подкожной доставки фармацевтических составов по настоящему изобретению можно использовать многочисленные многократные устройства для доставки в виде шприцев-ручек и/или автоинъекторов. Примеры включают без ограничения AUTOPEN™ (Owen Mumford, Inc., Вудсток, Великобритания), шприц-ручку DISETRONIC™ (Disetronic Medical Systems, Бургдорф, Швейцария), шприц-ручку HUMALOG MIX 75/25™, шприц-ручку HUMALOG™, шприц-ручку HUMALIN 70/30™ (Eli Lilly and Co., Индианаполис, Индиана), NOVOPEN™ I, II и III (Novo Nordisk, Копенгаген, Дания), NOVOPEN JUNIOR™ (Novo Nordisk, Копенгаген, Дания), шприц-ручку BD™ (Becton Dickinson, Франклин-Лейкс, Нью-Джерси), OPTIPEN™, OPTIPEN PRO™, OPTIPEN STARLET™ и OPTICLIK™ (Sanofi-Aventis, Франкфурт, Германия), при этом упомянуты лишь некоторые из них. Примеры одноразовых устройств для доставки в виде шприцев-ручек и/или автоинъекторов, применяемых для подкожной доставки фармацевтической композиции по настоящему изобретению, включают без ограничения шприц-ручку SOLOSTAR™ (Sanofi-Aventis), FLEXPEN™ (Novo Nordisk) и KWIKPEN™ (Eli Lilly), автоинъектор SURECLICK™ (Amgen, Таузанд-Окс, Калифорния), PENLET™ (Haselmeier, Штутгарт, Германия), EPIPEN (Dey, L.P.) и шприц-ручку HUMIRA™ (Abbott

Labs, Эбботт-Парк, Иллинойс), при этом упомянуты лишь некоторые из них. В некоторых случаях фармацевтический состав содержится в шприце, специально приспособленном для применения с автоинъектором. Подкожные инъекции можно вводить с помощью иглы 20-30 калибра или иглы 25-30 калибра. В некоторых случаях подкожные инъекции можно вводить с помощью иглы 25 калибра. В некоторых случаях подкожные инъекции можно вводить с помощью иглы 27 калибра. В некоторых случаях подкожные инъекции можно вводить с помощью иглы 29 калибра.

[0128] Другой тип устройства для доставки может включать предохранительную систему. Такие устройства могут быть относительно недорогими и обеспечивать ручное или автоматическое натягивание предохранительной трубочки поверх иглы по завершении инъекции. Примеры предохранительных систем могут включать устройство ERIS от West Pharmaceutical или устройство UltraSafe от Becton Dickinson. Кроме того, в данном документе также предусмотрено применение крупнообъемного устройства («LVD») или инъектора для болюсного введения для доставки фармацевтических составов по настоящему изобретению. В некоторых случаях LVD или инъектор для болюсного введения могут быть выполнены с возможностью инъекции лекарственного препарата пациенту. Например, LVD или инъектор для болюсного введения могут быть выполнены с возможностью доставки «большого» объема лекарственного препарата (как правило, от приблизительно 2 мл до приблизительно 10 мл).

[0129] В определенных вариантах осуществления фармацевтический состав вводят посредством капельницы для IV вливания, при этом состав разбавляют в пакете для IV вливания, содержащем физиологически приемлемый раствор. В одном варианте осуществления фармацевтическая композиция представляет собой составленный стерильный препарат в пакете для внутривенной инфузии, при этом однократная доза лекарственного препарата разбавлена в 100 мл, 250 мл (или другом подобном количестве, подходящем для доставки с помощью капельницы для внутривенного вливания) физиологического буфера (*например*, 0,9% солевого раствора).

[0130] Фармацевтические составы по настоящему изобретению также могут содержаться в стандартной лекарственной форме. Термин «стандартная лекарственная форма», используемый в данном документе, относится к физически дискретной единице, подходящей в качестве единичной дозы для пациента, подлежащего лечению, при этом каждая единица содержит предварительно определенное количество активного соединения, согласно расчетам обеспечивающее требуемый терапевтический эффект, в сочетании с необходимым фармацевтическим носителем, разбавителем или наполнителем. В различных вариантах осуществления стандартная лекарственная форма содержится в контейнере, обсуждаемом в данном документе. Фактические уровни дозировки активного ингредиента (*например*, биспецифического антитела к MUC16 и к CD3) в составах по настоящему изобретению можно изменять, чтобы получать количество активного ингредиента, которое является эффективным для достижения требуемого терапевтического ответа для конкретных пациента, композиции и способа

введения без нежелательного эффекта для пациента. Выбранный уровень дозировки будет зависеть от ряда фармакокинетических факторов, включая активность конкретных используемых композиций по настоящему изобретению, путь введения, время введения, скорость экскреции конкретного используемого соединения, продолжительность лечения, другие лекарственные средства, соединения и/или материалы, применяемые в комбинации с конкретными используемыми композициями, возраст, пол, вес, патологическое состояние, общее состояние здоровья и медицинский анамнез пациента, получающего лечение, а также подобные факторы, широко известные в области медицины. Используемый в данном документе термин «разбавитель» относится к раствору, подходящему для изменения или достижения иллюстративной или подходящей концентрации или концентраций, описанных в данном документе.

[0131] В различных вариантах осуществления стандартная лекарственная форма содержит количество активного ингредиента (*например*, биспецифического антитела к MUC16 и к CD3), предназначенное для однократного применения. В различных вариантах осуществления количество активного ингредиента в стандартной лекарственной форме составляет от приблизительно 0,1 мг до приблизительно 5000 мг, от приблизительно 100 мг до приблизительно 1000 мг и от приблизительно 100 мг до приблизительно 500 мг, от приблизительно 100 мг до приблизительно 400 мг, от приблизительно 100 мг до приблизительно 200 мг, от приблизительно 40 мг до приблизительно 60 мг, от приблизительно 125 мг до приблизительно 175 мг, от приблизительно 160 мг до приблизительно 200 мг, от приблизительно 1 мг до приблизительно 250 мг, от приблизительно 1 мг до приблизительно 100 мг, от приблизительно 1 мг до приблизительно 50 мг, от приблизительно 1 мг до приблизительно 25 мг, от приблизительно 1 мг до приблизительно 20 мг, от приблизительно 5 мг до приблизительно 15 мг или диапазоны или интервалы этих значений. Подразумевается, что диапазоны, являющиеся промежуточными по отношению к указанным выше количествам, например, от приблизительно 2 мг до приблизительно 100 мг или от 2 мг до 20 мг, также являются частью данного изобретения. Например, подразумевается включение диапазонов значений, полученных с использованием комбинации любых вышеуказанных значений (или значений, содержащихся в пределах вышеуказанных диапазонов) в качестве верхнего и/или нижнего пределов. В некоторых вариантах осуществления стандартная лекарственная форма содержит 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 100, 110, 120, 130, 140, 150, 160, 170, 180, 190 или 200 мг антитела. В некоторых вариантах осуществления стандартная лекарственная форма содержит 5 мг антитела. В некоторых вариантах осуществления стандартная лекарственная форма содержит 12,5 мг антитела. В конкретном варианте осуществления состав часто поставляется в виде жидкости в стандартной лекарственной форме. В некоторых вариантах осуществления стандартная лекарственная форма содержит от 3 до 7 мг или от 8 до 12 мг, от 10 до 15 мг, от 35 до 45 мг, от 45 до 55 мг, от 140 до 160 мг или от 170 до 190 мг. В некоторых вариантах

осуществления стандартная лекарственная форма в соответствии с настоящим изобретением подходит для подкожного введения пациенту (*например*, стандартная лекарственная форма, содержащая антитело в концентрации приблизительно 100 мг/мл, или приблизительно 200 мг/мл, или $150 \text{ мг/мл} \pm 5 \text{ мг/мл}$).

[0132] Настоящее изобретение также включает способы получения стандартной лекарственной формы. В иллюстративном варианте осуществления способ получения фармацевтической стандартной лекарственной формы включает объединение состава согласно любому из вышеуказанных вариантов осуществления в подходящем контейнере (*например*, контейнерах, обсуждаемых в данном документе).

ПУТИ ТЕРАПЕВТИЧЕСКОГО ПРИМЕНЕНИЯ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИХ СОСТАВОВ

[0133] Фармацевтические составы по настоящему изобретению применимы, *среди прочего*, для лечения, предупреждения и/или облегчения любого заболевания или нарушения, ассоциированного с клеткой, экспрессирующей MUC16 человека. Иллюстративные неограничивающие заболевания и нарушения, которые можно лечить путем введения фармацевтических составов по настоящему изобретению, включают рак яичника, рак молочной железы, рак поджелудочной железы и немелкоклеточный рак легкого.

[0134] Терапевтические способы по настоящему изобретению включают введение субъекту любого состава, содержащего биспецифическое антитело к MUC16 и к CD3, раскрытое в данном документе. Субъектом, которому вводят фармацевтический состав, может являться, *например*, любой человек или отличное от человека животное, которые нуждаются в таком лечении. Например, субъектом может быть индивидуум, у которого было диагностировано любое из вышеуказанных заболеваний или нарушений или у которого, как считается, имеется риск поражения ими. Настоящее изобретение дополнительно включает применение любого из фармацевтических составов, раскрытых в данном документе, в изготовлении лекарственного препарата для лечения любого заболевания или нарушения, ассоциированного с клеткой, экспрессирующей MUC16 человека, включая любое из вышеуказанных иллюстративных заболеваний, нарушений и состояний.

[0135] В некоторых вариантах осуществления в настоящем изобретении представлены наборы, содержащие фармацевтический состав (*например*, контейнер с составом или стандартную лекарственную форму), обсуждаемый в данном документе, и упаковку или этикетку (*например*, листок-вкладыш в упаковке) с инструкциями по применению фармацевтического состава для лечения заболевания или нарушения, обсуждаемого выше. В некоторых случаях в инструкциях оговаривается применение стандартной лекарственной формы, обсуждаемой в данном документе, для лечения заболевания или нарушения.

[0136] Сводная информация о последовательностях и соответствующих SEQ ID NO, на которые ссылаются в данном документе, показана в таблице 1 ниже.

Таблица 1. Сводная информация о последовательностях

SEQ ID NO:	Описание
1	Тяжелая цепь антитела к MUC16
2	Тяжелая цепь антитела к CD3
3	Общая легкая цепь антитела к MUC16 и антитела к CD3
4	HCVR антитела к MUC16
5	HCVR антитела к CD3
6	Общая LCVR антитела к MUC16 и антитела к CD3
7	HCDR1 антитела к MUC16
8	HCDR2 антитела к MUC16
9	HCDR3 антитела к MUC16
10	HCDR1 антитела к CD3
11	HCDR2 антитела к CD3
12	HCDR3 антитела к CD3
13	Общая LCDR1 антитела к MUC16 и антитела к CD3
14	Общая LCDR2 антитела к MUC16 и антитела к CD3
15	Общая LCDR3 антитела к MUC16 и антитела к CD3
16	Константная область тяжелой цепи IgG4
17	Константная область тяжелой цепи IgG4 с H435R/Y436F
18	Константная область тяжелой цепи IgG1
19	Константная область тяжелой цепи IgG1 с H435R/Y436F

ПРИМЕРЫ

[0137] Следующие примеры представлены для того, чтобы обеспечить средних специалистов в данной области техники полным раскрытием и описанием того, как получать и применять способы и композиции по настоящему изобретению, и они не предполагают ограничение объема того, что авторы настоящего изобретения рассматривают в качестве своего изобретения. Были приложены усилия для обеспечения точности в отношении используемых чисел (например, количества, температуры и т. п.), однако необходимо учитывать некоторые экспериментальные погрешности и отклонения. Если не указано иное, то части являются частями по весу, молекулярная масса представляет собой среднюю молекулярную массу, температура представлена в градусах Цельсия, а давление является атмосферным или близким к атмосферному.

Пример 1. Разработка стабильных жидких и лиофилизированных составов на основе биспецифических антител к MUC16 и к CD3

[0138] Физическая стабильность состава относится к таким свойствам, как окраска, внешний вид, pH, мутность, наличие твердых частиц и концентрация белка. Химическая

стабильность относится к образованию высокомолекулярных (HMW) соединений, низкомолекулярных (LMW) соединений, вариантов, отличающихся зарядами, и других химических модификаций белка. Физическую и химическую стабильность лекарственного препарата на основе mAb1 оценивали с применением следующих анализов: окраска и внешний вид - путем визуального осмотра; pH; мутность измеряли по увеличению оптической плотности (OD) при 405 нм; анализ не видимых невооруженным глазом твердых частиц - с помощью визуализации микропотока™ (MFI); концентрацию белка - с помощью обращенно-фазовой сверхэффективной жидкостной хроматографии (RP-UPLC); чистоту каждого отдельного лекарственного препарата оценивали с применением эксклюзионной сверхэффективной жидкостной хроматографии (SE-UPLC) и капиллярного электрофореза на микрочипе в присутствии додецилсульфата натрия (MCESDS) в восстанавливающих и в невосстанавливающих условиях; анализ вариантов, отличающихся зарядами, проводили с применением катионообменной UPLC (CEX-UPLC) (гликированное mAb1 выявляли с помощью CEX-UPLC) и капиллярного изоэлектрического фокусирования под визуализационным контролем (iCIEF); и активность - с помощью биологического анализа (относительную активность каждого образца определяли с помощью биологического анализа и выражали в виде: $(IC_{50} \text{ эталонного образца} / IC_{50} \text{ образца}) \times 100\%$; при этом измеренная активность образцов в анализе стабильности при хранении должна находиться в диапазоне 50-150% от измеренной активности эталонного стандарта).

[0139] Лиофилизированный состав на основе mAb1 разрабатывали для внутривенного (IV) или подкожного (SC) введения. Лиофилизированный лекарственный препарат на основе mAb1 можно восстанавливать стерильной водой для инъекций (WFI) до концентрации 2 мг/мл mAb1 или 20 мг/мл mAb1 для IV инфузии или SC инъекции. Операции по разработке состава включали оценку буферов, pH, органических соразтворителей, поверхностно-активных веществ и сахарозы (в качестве температурного стабилизатора) для идентификации вспомогательных веществ, которые усиливают стабильность белка. Результаты, полученные в ходе данных исследований, использовали для разработки стабильного лиофилизированного состава, который являлся подходящим для восстановления до жидкой формы.

Выбор буфера и pH

[0140] Эффект буфера и pH в отношении термической стабильности mAb1 изначально исследовали в жидких составах путем инкубации 2 мг/мл mAb1 при 45°C в течение 28 дней в ряде буферных систем при различных показателях pH. Исследовали следующие показатели pH и буферные системы: ацетат (pH от 4,5 до 5,5), гистидин (pH от 5,5 до 6,5) и фосфат (pH от 6,5 до 7,5). Эти анализы выявили, что основными путями разрушения было образование HMW-соединений и вариантов, отличающихся зарядами. Согласно результатам SE-UPLC наиболее низкая скорость образования HMW-соединений и наиболее низкая скорость потери мономеров наблюдались в случае, когда mAb1 было составлено при pH от 5,5 до 6,5 в гистидиновом буфере или при pH от 4,5 до 5,5 в

ацетатном буфере, как показано в таблице 2. Анализ методом СЕХ-UPLC также указывал на то, что профиль вариантов, отличающихся зарядами, был наиболее стабильным в случае, когда mAb1 было составлено при рН от 5,5 до 6,5 в гистидиновом буфере или при рН от 4,5 до 5,5 в ацетатном буфере, как показано в таблице 2. По сравнению с исходным материалом в анализе методом СЕХ-UPLC наблюдалось уменьшение относительного количества общих кислых соединений и сопутствующее увеличение пика главного варианта, отличающегося зарядом, после инкубации mAb1 при 45°C в течение 28 дней.

[0141] Выделяли отдельный пик, который содержал примерно 50% общих кислых вариантов, отличающихся зарядами, наблюдаемый на хроматограмме СЕХ-UPLC. С помощью дополнительного анализа идентифицировали, что основным компонентом в данном пике являлся белок mAb1, характеризующийся гликированием по Lys98 тяжелой цепи (НС) в CDR3 MUC16-связывающего плеча биспецифического антитела (гликирование обсуждается подробно в следующем абзаце). В ходе начальных операций, связанных с разработкой состава на основе mAb1, отслеживали стабильность всех из главного варианта, отличающегося зарядом, общих кислых соединений, общих основных соединений и гликированной формы молекулы. Гистидиновый буфер, рН 6,0, был выбран для клинически благоприятного состава, поскольку в данном буфере и при данном рН скорость образования НМВ-соединений, скорость потери мономеров и скорость образования вариантов, отличающихся зарядами, были минимальными.

[0142] В анализе методом СЕХ-UPLC наблюдался специфический кислый пик, полученный из mAb1, содержащий примерно 50% общих кислых вариантов, отличающихся зарядами, полученных из mAb1. Площадь данного пика, выявленного с помощью СЕХ-UPLC, уменьшалась после инкубации при 45°C в течение 28 дней. Было идентифицировано, что данный пик представлял собой вариант mAb1, характеризующийся гликированием по Lys98 НС в CDR3 MUC16-связывающего плеча биспецифического антитела. Наряду с уменьшением уровня гликированной формы mAb1 наблюдалось увеличение активности в биологическом анализе (см. фигуру 1). Хотя реакция дегликирования по Lys98 легко происходит в растворе, уровень гликирования в лиофилизированном состоянии оставался неизменным при хранении состава при 5°C в течение по меньшей мере 12 месяцев. Кроме того, активность оставалась неизменной при хранении лиофилизированного состава при 5°C в течение вплоть до 12 месяцев. Таким образом, для mAb1 в качестве состава был выбран лиофилизированный состав.

Выбор поверхностно-активного вещества/органического соразтворителя

[0143] Эффект поверхностно-активных веществ полисорбата 20 и полисорбата 80 в отношении стабильности в условиях стресса, вызываемого перемешиванием, и термической стабильности 5 мг/мл mAb1 исследовали в жидких составах (10% сахара присутствовала в составах, содержащих поверхностно-активное вещество). Полисорбат 20 и полисорбат 80 в концентрациях 0-0,1% (вес/об.) тестировали в отношении способности стабилизировать mAb1 (см. таблицы 3 и 4 ниже). Как полисорбат 20, так и полисорбат 80 были способны стабилизировать mAb1 в условиях стресса, вызываемого

перемешиванием, в случае присутствия на уровнях 0,01% или выше, как показано в таблице 3. Если поверхностно-активное вещество не было включено в состав, то наблюдалось увеличение количества НМВ-соединений, составляющее вплоть до 1,9%. Увеличение количества НМВ-соединений не наблюдалось, если в состав было включено $\geq 0,01\%$ полисорбата 20 или полисорбата 80.

[0144] Для исследования влияния термического стресса на стабильность mAb1 были выбраны концентрации 0,05% полисорбата 20 и 0,05% полисорбата 80. После инкубации в течение 28 дней при 45°C наблюдалось на примерно 0,5% меньше НМВ-соединений и на 1,6% больше мономеров mAb1 в случае состава, содержащего 0,05% полисорбата 20, по сравнению с составом, содержащим 0,05% полисорбата 80, как показано в таблице 4. Кроме того, mAb1 демонстрировало улучшенный профиль стабильности в присутствии 0,05% полисорбата 20, как определено с помощью анализа методом СЕХ-UPLC после инкубации при 45°C в течение 28 дней. По сравнению с mAb1, составленным в присутствии 0,05% полисорбата 80 (см. таблицу 4), mAb1 в присутствии 0,05% полисорбата 20 показал (1) уменьшение образования кислых соединений на примерно 5%, (2) уменьшение потери форм главного варианта, отличающегося зарядом, на примерно 6% и (3) примерно эквивалентные изменения уровней гликированных соединений. 0,05% полисорбат 20 был выбран в качестве поверхностно-активного вещества для составления лекарственного препарата на основе mAb1, поскольку он в достаточной степени стабилизировал белок в условиях стресса, вызываемого перемешиванием.

Температурный стабилизатор/криопротектор

[0145] В жидкие и лиофилизированные составы на основе антител для увеличения термической стабильности и стабильности белка в условиях стресса, вызываемого замораживанием/размораживанием, иногда можно добавлять стабилизаторы, такие как сахароза. Включение сахарозы в состав на основе mAb1 было необходимым для стабилизации mAb1 в условиях стресса, вызываемого замораживанием/размораживанием. В отсутствие сахарозы уровень НМВ-соединений увеличивался на 0,4% после того, как mAb1 было подвергнуто четырем циклам замораживания и размораживания (см. таблицу 5). Добавление 10% сахарозы в состав обеспечивало стабилизацию лекарственного вещества mAb1 в условиях четырех циклов замораживания/размораживания (см. таблицу 5).

[0146] Сахароза также была необходимой в качестве криопротектора для стабилизации mAb1 в ходе процесса лиофилизации. После восстановления лиофилизированных составов на основе mAb1 относительное количество НМВ-соединений увеличивалось на 0,2% в отсутствие сахарозы, но не демонстрировало существенных изменений, когда состав содержал 10% сахарозу, как показано в таблице 6.

Когда лиофилизированное mAb1 инкубировали при 50°C в течение 28 дней в отсутствие сахарозы, уровень НМВ-соединений увеличивался на 5,9%, а уровень мономеров уменьшался на 7,1%, как определено с помощью SE-UPLC (см. таблицу 7).

Более того, после инкубации mAb1 при 50°C в отсутствие сахарозы уровень кислых соединений уменьшался на 13,8%, уровень основных соединений увеличивался на 14,3%, и уровень гликированных соединений уменьшался на 14,7%, как определено с помощью СЕХ-UPLC (см. таблицу 7). Однако в присутствии 10% сахарозы не наблюдались существенные изменения уровней вариантов, отличающихся молекулярной массой, или вариантов, отличающихся зарядами, как показано в таблице 7.

[0147] Десятипроцентная сахароза оказывала положительное влияние на стабильность в условиях замораживания/размораживания, термическую стабильность и стабильность mAb1 в ходе процесса лиофилизации. Десятипроцентную сахарозу также применяют в качестве объемообразующего средства в ходе лиофилизации. Таким образом, при разработке лиофилизованного состава на основе mAb1 в качестве стабилизатора была выбрана 10% сахароза.

Сводная информация о выбранных компонентах состава

[0148] mAb1 демонстрировало максимальную стабильность при составлении в присутствии 10 мМ гистидина, 0,050% полисорбата 20 и 10% сахарозы при pH 6,0. Основными путями разрушения, идентифицированными в ходе разработки жидкого состава на основе mAb1, было образование HMW-соединений и вариантов, отличающихся зарядами. Наблюдаемый вариант, отличающийся зарядами, представляющий особенный интерес, характеризуется гликированием по HC-CDR3-Lys98. Было продемонстрировано, что уровень гликированного mAb1 был неизменным после инкубации лиофилизованного mAb1 в условиях стресса и условиях хранения в реальном времени. Информация, полученная в ходе разработки жидкого состава и исследований осуществимости лиофилизации, создала основу для разработки состава для лиофилизованного лекарственного препарата, подходящего для вариантов клинического применения. Для обеспечения восстановления лиофилизованного лекарственного препарата до концентрации 2 мг/мл mAb1 для IV введения разрабатывали составленное лекарственное вещество, содержащее 2 мг/мл mAb1, 10 мМ гистидина, pH 6,0, 10% (вес/об.) сахарозы и 0,05% (вес/об.) полисорбата 20.

Таблица 2. Эффект буфера и pH в отношении стабильности 2 мг/мл mAb1, инкубируемого при 45°C в течение 28 дней

Состав		2 мг/мл mAb1 и 10 мМ буфера			
Объем наполнения		0,4 мл			
Контейнер/ укупорочный элемент		Флаконт на 2 мл из боросиликатного стекла 1 типа с пробкой из бутылкаучука 4432/50, покрытой FluroTec®			
рН/буфер	Внешний вид	Мутность (увеличение OD при 405 нм)	рН	Извлеченного mAb1 согласно	Изменение количества вариантов, отличающихся зарядами, согласно СЕХ-UPLC ^a
				Изменение чистоты согласно SE-UPLC ^a	

					% НМВ	% нативных	% ЛМВ	% кислых	% главного	% основных	% гликированных
pH 4,5, ацетат	Удовлетворительный	0,00	4,6	104	0,8	-1,6	0,8	-14,5	8,5	6,0	-19,6
pH 5,0, ацетат	Удовлетворительный	0,00	5,1	101	1,0	-1,4	0,3	-11,0	9,6	1,5	-21,6
pH 5,5, ацетат	Удовлетворительный	0,00	5,7	100	1,4	-1,6	0,3	-7,8	9,4	-1,6	-22,0
pH 5,5, гистидин	Удовлетворительный	0,00	5,6	99	1,0	-1,4	0,4	-13,3	4,1	9,2	-22,1
pH 6,0, гистидин	Удовлетворительный	0,00	6,1	102	0,7	-0,9	0,2	-9,2	5,8	3,4	-23,2
pH 6,5, гистидин	Удовлетворительный	0,00	6,6	102	0,9	-1,1	0,3	-4,8	3,7	1,1	-22,5
pH 6,5, фосфат	Удовлетворительный	0,00	6,4	100	3,8	-4,3	0,5	1,8	-10,1	8,3	-18,2
pH 7,0, фосфат	Удовлетворительный	0,01	6,9	95	3,7	-4,5	0,8	10,5	-14,5	4,0	-19,1
pH 7,5, фосфат	Неудовлетворительный ^b	0,08	7,4	91	5,3	-7,2	1,8	-19,5	12,9	6,6	ND ^c

^a Приведено в виде изменения чистоты относительно исходного материала. Исходный материал (без инкубации) содержит $\geq 97,8\%$ пика нативной формы согласно SE-UPLC и $\geq 42,6\%$ главного пика согласно CEX-UPLC во всех составах.

^b Образец был мутным при отсутствии видимых частиц.

^c Не определено ввиду обширного разрушения CEX: катионообменный; DS: лекарственное вещество; FDG: группа разработки составов; НМВ: высокомолекулярный; ЛМВ: низкомолекулярный; ND: не определено; OD: оптическая плотность; RP: обращенно-фазовый; SE: эксклюзионный; UPLC: сверхэффективная жидкостная хроматография

Таблица 3. Эффект концентрации поверхностно-активного вещества в отношении стабильности 5 мг/мл mAb1 после перемешивания (встряхивания вихревым способом в течение 120 мин)

Состав	5 мг/мл mAb1, 10 мМ гистидина, pH 6,0
--------	---------------------------------------

Объем наполнения	0,4 мл										
Контейнер/ укупорочный элемент	Флакон на 2 мл из боросиликатного стекла 1 типа с пробкой из бутилкаучука 4432/50, покрытой FluroTec®										
Органический соразтворитель/ поверхностно- активное вещество/сахароза	Окраска и внешний вид	Мутность (увеличение OD при 405 нм)	рН	% общего извлеченного mAb1 согласно RP-UPLC	Изменение чистоты согласно SE- UPLC ^a			Изменение количества вариантов, отличающихся зарядами, согласно CEX-UPLC ^a			
					% HMW	% нативных	% LMW	% кислых	% главного	% основных	% гликированных
Без соразтворителя/ сахарозы	Удовлетво рительный	0,02	6,0	99	1,3	-1,3	0,0	-0,1	0,1	0	-0,8
10% (вес/об.) сахарозы	Удовлетво рительный	0,02	6,0	100	1,9	-1,9	0,0	1,1	-0,8	-0,2	-0,4
0,01% (вес/об.) полисорбата 20 и 10% (вес/об.) сахарозы	Удовлетво рительный	0,01	6,0	102	0,0	0,0	0,0	0,1	1,3	-1,5	0,0
0,05% (вес/об.) полисорбата 20 и 10% (вес/об.) сахарозы	Удовлетво рительный	0,01	6,0	103	0,0	0,0	0,0	-0,4	0,5	-0,1	0,7
0,1% (вес/об.) полисорбата 20 и 10% (вес/об.) сахарозы	Удовлетво рительный	0,01	6,0	103	0,0	0,0	0,0	-0,2	-1,2	1,3	-0,1
0,01% (вес/об.) полисорбата 80 и 10% (вес/об.) сахарозы	Удовлетво рительный	0,00	6,0	105	0,0	0,0	0,0	-1,1	0,4	0,7	1,0

0,05% (вес/об.) полисорбата 80 и 10% (вес/об.) сахарозы	Удовлетво рительный	0,00	6,0	104	0,0	0,0	0,0	0,5	-1,7	1,2	0,2
0,1% (вес/об.) полисорбата 80 и 10% (вес/об.) сахарозы	Удовлетво рительный	0,00	6,0	105	0,0	0,0	0,0	0,9	-0,6	-0,3	0,2

^a Приведено в виде изменения чистоты относительно исходного материала; исходный материал (без инкубации) содержит $\geq 97,7\%$ пика нативной формы согласно SE-UPLC и $\geq 46,8\%$ главного пика согласно CEX-UPLC во всех составах.

CEX: катионообменный; DS: лекарственное вещество; HMW: высокомолекулярный; LMW: низкомолекулярный; OD: оптическая плотность; RP: обращенно-фазовый; SE: эксклюзионный; UPLC: сверхэффективная жидкостная хроматография

Таблица 4. Оценивание концентрации полисорбата 20 и полисорбата 80: эффект концентрации поверхностно-активного вещества в отношении стабильности 5 мг/мл mAb1 в случае инкубации при 45°C в течение 28 дней

Состав		5 мг/мл mAb1, 10 mM гистидина, pH 6,0										
Объем наполнения		0,4 мл										
Контейнер/укупорочный элемент		Флакон на 2 мл из боросиликатного стекла 1 типа с пробкой из бутилкаучука 4432/50, покрытой FluroTec®										
Органический соразтворитель/ поверхностно-активное вещество/ сахароза	Окраска и внешний вид	Мутность (увеличение OD при 405 нм)	pH	% общего извлеченного mAb1 согласно RP-UPLC	Изменение чистоты согласно SE-UPLC ^a			Изменение количества вариантов, отличающихся зарядами, согласно CEX-UPLC ^a				
					% HMW	% нативных	% LMW	% кислых	% главного	% основных	% гликированных	
0,05% (вес/об.) полисорбата 20 и 10% (вес/об.) сахарозы	Удовлетво рительный	0,02	6,0	101	9,3	-10,1	0,7	1,1	-0,2	-0,9	-17,6	

0,05% (вес/об.) полисорбата 80 и 10% (вес/об.) сахарозы	Удовлетво рительный	0,01	6,0	100	9,8	-11,7	1,9	6,0	-6,5	0,5	-16,1
--	------------------------	------	-----	-----	-----	-------	-----	-----	------	-----	-------

^a Приведено в виде изменения чистоты относительно исходного материала; исходный материал (без инкубации) содержит $\geq 97,6\%$ пика нативной формы согласно SE-UPLC и $\geq 46,0\%$ главного пика согласно CEX-UPLC во всех составах.

CEX: катионообменный; DS: лекарственное вещество; HMW: высокомолекулярный; LMW: низкомолекулярный; OD: оптическая плотность; RP: обращенно-фазовый; SE: эксклюзионный; UPLC: сверхэффективная жидкостная хроматография

Таблица 5. Эффект 10% сахарозы в отношении стабильности 5 мг/мл mAb1 после четырех циклов замораживания и размораживания

Состав		5 мг/мл mAb1, 10 mM гистидина, pH 5,5 ^a									
Объем наполнения		0,4 мл									
Контейнер/укупорочный элемент		Флакон на 2 мл из боросиликатного стекла 1 типа с пробкой из бутилкаучука 4432/50, покрытой FluroTec®									
Органический соразтворитель/поверхностно-активное вещество/сахароза	Окраска и внешний вид	Мутность (увеличение OD при 405 нм)	pH ^a	% общего извлеченного mAb1 согласно RP-UPLC	Изменение чистоты согласно SE-UPLC ^b			Изменение количества вариантов, отличающихся зарядами, согласно CEX-UPLC ^b			
					% HMW	% нативных	% LMW	% кислых	% главного	% основных	% гликированных
Без сахарозы	Удовлетворительный	0,01	5,5	99	0,4	-0,4	0,1	3,3	-2,9	-0,3	-1,4
10% (вес/об.) сахарозы	Удовлетворительный	0,00	5,5	101	0,0	0,0	0,0	-0,4	0,3	0,1	0,4

^a Для первоначальной разработки состава использовали pH 5,5. Оптимизацию pH не проводили до тех пор, пока не было выбрано первоначальное поверхностно-активное вещество.

^b Приведено в виде изменения чистоты относительно исходного материала; исходный материал (без инкубации) содержит $\geq 97,4\%$ пика нативной формы согласно SE-UPLC и $\geq 42,8\%$ главного пика согласно CEX-UPLC во всех составах.

CEX: катионообменный; DS: лекарственное вещество; HMW:

высокомолекулярный; LMW: низкомолекулярный; OD: оптическая плотность; RP: обращенно-фазовый; SE: эксклюзионный; UPLC: сверхэффективная жидкостная хроматография

Таблица 6. Стабилизация mAb1 в ходе лиофилизации путем включения 10% сахарозы

Состав перед лиофилизацией		5 мг/мл mAb1, 10 мМ гистидина, pH 6,0, 0,05% (вес/об.) полисорбата 20									
Восстановленный состав		5 мг/мл mAb1, 10 мМ гистидина, pH 6,0, 0,05% (вес/об.) полисорбата 20									
Объем наполнения		0,5 мл									
Контейнер/упаковочный элемент		Флакон на 2 мл из боросиликатного стекла 1 типа с пробкой из бутилкаучука 4432/50, покрытой FluroTec®									
Температурный стабилизатор	Окраска и внешний вид	Мутность (увеличение OD при 405 нм)	pH	% общего извлеченного mAb1 согласно RP-UPLC	Изменение чистоты согласно SE-UPLC ^c			Изменение количества вариантов, отличающихся зарядами, согласно CEX-UPLC ^c			
					% HMW	% нативных	% LMW	% кислых	% главного	% основных	% гликированных
Без сахарозы	Удовлетворительный	0,01	6,1	105	0,2	-0,1	-0,1	-0,4	0,2	0,1	0,2
10% (вес/об.) сахарозы	Удовлетворительный	0,02	6,1	104	0,0	0,1	-0,1	-0,6	0,5	0,1	0,2

(mAb1 восстанавливали и анализировали непосредственно после завершения лиофилизации)

^c Приведено в виде изменения чистоты относительно исходного материала; исходный материал (без лиофилизации) содержит $\geq 98,7\%$ пика нативной формы согласно SE-UPLC и $\geq 45,1\%$ главного пика согласно CEX-UPLC в обоих составах.

CEX: катионообменный; DS: лекарственное вещество; HMW:

высокомолекулярный; LMW: низкомолекулярный; OD: оптическая плотность; RP: обращенно-фазовый; SE: эксклюзионный; UPLC: сверхэффективная жидкостная хроматография

Таблица 7. Эффект присутствия 10% сахарозы в отношении стабильности лиофилизированного DP на основе mAb1, инкубируемого при 50°C в течение 28 дней

Состав перед лиофилизацией		5 мг/мл mAb1, 10 mM гистидина, pH 6,0, 0,05% (вес/об.) полисорбата 20									
Восстановленный состав		5 мг/мл mAb1, 10 mM гистидина, pH 6,0, 0,05% (вес/об.) полисорбата 20									
Объем наполнения		0,5 мл									
Контейнер/укупорочный элемент		Флакон на 2 мл из боросиликатного стекла 1 типа с пробкой из бутилкаучука 4432/50, покрытой FluroTec®									
Температурный стабилизатор	Окраска и внешний вид	Мутность (увеличение OD при 405 нм)	pH	% общего извлеченного mAb1 согласно RP-UPLC	Изменение чистоты согласно SE-UPLC ^a			Изменение количества вариантов, отличающихся зарядами, согласно CEX-UPLC ^a			
					% HMW	% нативных	% LMW	% кислых	% главного	% основных	% гликированных
Без сахарозы	Удовлетворительный	0,00	6,1	94	5,9	-7,1	1,1	-13,8	-0,5	14,3	-14,7
10% (вес/об.) сахарозы	Удовлетворительный	0,01	6,1	98	0,0	-0,3	0,3	-1,1	0,8	0,4	-0,9

^a Приведено в виде изменения чистоты относительно исходного материала; исходный материал (без лиофилизации) содержит $\geq 98,7\%$ пика нативной формы согласно SE-UPLC и $\geq 45,1\%$ главного пика согласно CEX-UPLC в обоих составах.

CEX: катионообменный; DS: лекарственное вещество; HMW: высокомолекулярный; LMW: низкомолекулярный; OD: оптическая плотность; RP: обращенно-фазовый; SE: эксклюзионный; UPLC: сверхэффективная жидкостная хроматография

Пример 2. Стабильность составов при хранении и в условиях стресса

[0149] Проводили исследования для оценивания стабильности при хранении, в условиях ускоренного старения и стабильности в условиях стресса (перемешивания)

жидких, лиофилизированных и восстановленных составов лекарственного препарата на основе mAb1.

Результаты анализа лиофилизированного лекарственного препарата на основе mAb1 показывают, что лекарственный препарат на основе mAb1 был физически и химически стабильным в случае хранения при 5°C в течение по меньшей мере 36 месяцев (см. таблицы 8, 10 и 12). Существенных изменений в физической или химической стабильности не было выявлено ни по одному из контролируемых свойств. Результаты анализа лиофилизированного лекарственного препарата на основе mAb1 после инкубации в условиях ускоренного старения представлены в таблицах 9, 11 и 13. После инкубации в течение 3 месяцев при 37°C существенных изменений в физической или химической стабильности mAb1 не было выявлено ни по одному из контролируемых свойств. Аналогично, существенных изменений в физической или химической стабильности не было выявлено ни по одному из контролируемых свойств после инкубации в течение 6 месяцев при 25°C/относительной влажности (RH) 60%. После инкубации в течение 3 месяцев при 50°C наблюдалось незначительное увеличение количества HMW-соединений (0,3%) и основных соединений (7,6% согласно CEX-UPLC и 4,0% согласно icIEF). Активность mAb1 сохранялась, как определено с помощью биологического анализа после инкубации в условиях ускоренного старения.

Таблица 8. Исследование стабильности лиофилизированного лекарственного препарата на основе mAb1 при хранении при 5°C

Состав	перед лиофилизацией								
Объем наполнения	2 мг/мл mAb1, 10 mM гистидина, pH 6,0, 10% (вес/об.) сахарозы, 0,05% (вес/об.) полисорбата 20								
Контейнер/укупорочный элемент	Флаконт на 5 мл из боросиликатного стекла 1 типа с пробкой West V10-F597W 4432/50 B2-TR								
	Длительность хранения при 5°C (месяцы)								
Анализ ^a	0	1	3 ^b	6	9	12	18	24	36
Анализ лиофилизированного лекарственного препарата									
Внешний вид лиофилизированной массы	Удовлетворительный	Удовлетворительный	Удовлетворительный	Удовлетворительный	Удовлетворительный	Удовлетворительный	Удовлетворительный	Удовлетворительный	Удовлетворительный
% влаги	0,68	NR	0,81	0,81	NR	0,75	NR	0,76	1,15
Время восстановления (секунды)	62	55	55	54	55	54	56	55	33

Анализ восстановленного лекарственного препарата ^c										
Окраска и внешний вид		Удовлетворительный	Удовлетворительный	Удовлетворительный	Удовлетворительный	Удовлетворительный	Удовлетворительный	Удовлетворительный	Удовлетворительный	Удовлетворительный
Мутность (увеличение OD при 405 нм)		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
pH		6,0	6,0	6,0	6,1	6,0	6,1	6,1	6,0	6,1
Анализ твердых частиц с помощью MFI (частицы/контейнер)	2-10 мкм	200	NR	84	424	NR	232	NR	759	429
	≥ 10 мкм	10	NR	7	10	NR	17	NR	30	21
	≥ 25 мкм	5	NR	2	2	NR	1	NR	5	5
% извлеченного белка согласно RP-UPLC		100	99	104	101	100	100	103	101	96
Чистота согласно MCE-SDS	В невосстанавливающих условиях; % главного пика	100	NR	100	100	NR	100	NR	100	100
	В восстанавливающих условиях; % тяжелой+легкой цепей	100	NR	100	100	NR	100	NR	100	100
Чистота согласно SE-UPLC	% HMW	0,6	0,5	0,6	0,6	0,6	0,6	0,6	0,6	0,5
	% нативных	99,0	99,1	99,1	99,0	99,0	99,0	99,0	98,8	99,1
	% LMW	0,4	0,4	0,4	0,5	0,4	0,5	0,4	0,6	0,4
Анализ вариантов,	% кислых	50,2	51,9	50,5	51,8	51,3	52,1	51,6	51,7	51,3
	% главного	47,3	45,5	46,9	44,5	45,5	44,8	44,9	45,0	46,1

Отличающихся зарядами, с помощью CEX-UPLC	% основных	2,5	2,7	2,6	3,7	3,2	3,1	3,5	3,4	2,6
	% гликированных	28,4	27,9	28,5	27,6	27,4	27,6	27,5	27,1	26,4
Анализ вариантов, отличающихся зарядами, с помощью iCIEF	% кислых	47,0	NR	48,9	48,1	NR	48,9	NR	48,6	48,2
	% главного	44,6	NR	43,2	43,7	NR	43,0	NR	43,8	43,6
Отличающихся зарядами, с помощью iCIEF	% основных	8,5	NR	8,0	8,2	NR	8,1	NR	7,6	8,3
	% относительной активности (биологический анализ)	125	NR	73	NR	NR	89	NR	67	106

а CEX: катионообменный; DS: лекарственное вещество; FDG: группа разработки составов; HMW: высокомолекулярный; iCIEF: капиллярное изоэлектрическое фокусирование под визуализационным контролем; LMW: низкомолекулярный; MSE: капиллярный электрофорез на микрочипе; MFI: визуализация микропотока™; NR: не требуется; OD: оптическая плотность; RP: обращенно-фазовый; SDS: додецилсульфат натрия; SE: эксклюзионный; UPLC: сверхэффективная жидкостная хроматография

б Фактическая длительность хранения этих образцов составляет 4 месяца

с Образцы восстанавливали стерильной WFI до 2 мг/мл mAb1

Таблица 9. Исследование стабильности лиофилизированного лекарственного препарата на основе mAb1 при хранении в условиях ускоренного старения

Состав перед лиофилизацией	2 мг/мл mAb1, 10 mM гистидина, pH 6,0, 10% (вес/об.) сахарозы, 0,05% (вес/об.) полисорбата 20					
Объем наполнения	2,5 мл					
Контейнер/укупорочный элемент	Флакон на 5 мл из боросиликатного стекла 1 типа с пробкой West V10-F597W 4432/50 B2-TR					
	Без хранения	Хранение при 25°C/RH 60% (месяцы)		Хранение при 37°C (месяцы)		
Анализ	t=0	3	6	1	3	
Анализ лиофилизированного лекарственного препарата						
Внешний вид лиофилизированной массы	Удовлетворительный	Удовлетворительный	Удовлетворительный	Удовлетворительный	Удовлетворительный	
% влаги	0,68	1,01 ^a	0,97	NR	0,89	

Время восстановления (секунды)		62	54	52	54	55
Анализ восстановленного лекарственного препарата^b						
Окраска и внешний вид		Удовлетворительный	Удовлетворительный	Удовлетворительный	Удовлетворительный	Удовлетворительный
Мутность (увеличение OD при 405 нм)		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
pH		6,0	6,0	6,0	6,0	6,0
Анализ твердых частиц с помощью MFI (частицы/контейнер)	2-10 мкм	200	68 ^a	332	NR	800
	≥ 10 мкм	10	8 ^a	5	NR	52
	≥ 25 мкм	5	3 ^a	2	NR	25
% извлеченного белка согласно RP-UPLC		100	104	102	99	104
Чистота согласно MCE-SDS	В невосстанавливающих условиях; % главного пика	100	100	100	NR	100
	В восстанавливающих условиях; % тяжелой+легкой цепей	100	100	100	NR	100
Чистота	% HMW	0,6	0,6	0,6	0,6	0,6

согласно SE-UPLC	% нативных	99,0	99,0	99,0	99,1	98,9
	% LMW	0,4	0,4	0,5	0,4	0,5
Анализ вариантов, отличающихся зарядами, с помощью CEХ-UPLC	% кислых	50,2	50,3	51,8	51,4	50,0
	% главного	47,3	47,0	44,3	46,0	47,1
	% основных	2,5	2,7	3,9	2,7	2,9
	% гликированных	28,4	28,4	27,2	28,0	28,2
Анализ вариантов, отличающихся зарядами, с помощью iCIEF	% кислых	47,0	48,1	48,4	NR	46,8
	% главного	44,6	43,2	42,7	NR	44,3
	% основных	8,5	8,7	9,0	NR	9,0
% относительной активности (биологический анализ)		125	102	NR	NR	93

^a Фактическая длительность хранения составляет 4 месяца

^b Образцы восстанавливали стерильной WFI до 2 мг/мл mAb1

CEX: катионообменный; DS: лекарственное вещество; FDG: группа разработки составов; HMW: высокомолекулярный; iCIEF: капиллярное изоэлектрическое фокусирование под визуализационным контролем; LMW: низкомолекулярный; MCE: капиллярный электрофорез на микрочипе; MFI: визуализация микропотока; NR: не требуется; OD: оптическая плотность; RP: обращенно-фазовый; SDS: додецилсульфат натрия; SE: эксклюзионный; UPLC: сверхэффективная жидкостная хроматография

Таблица 10. Исследование стабильности лиофилизированного лекарственного препарата на основе mAb1 при хранении при 5°C

Состав	перед лиофилизацией	2 мг/мл mAb1, 10 мМ гистидина, pH 6,0, 10% (вес/об.) сахарозы, 0,05% (вес/об.) полисорбата 20
Объем наполнения		2,5 мл
Контейнер/укупорочный элемент		Флаккон на 5 мл из боросиликатного стекла 1 типа с пробкой West V10-F597W 4432/50 B2-TR

		Длительность хранения при 5°C (месяцы)								
Анализ ^a		0	1	3	6	9	12	18	24	36
Анализ лиофилизированного лекарственного препарата										
Внешний вид лиофилизированной массы		Удовлетворительный	Удовлетворительный	Удовлетворительный	Удовлетворительный	Удовлетворительный	Удовлетворительный	Удовлетворительный	Удовлетворительный	Удовлетворительный
% влаги		0,44	NR	0,28	0,40	NR	0,52	NR	0,26	0,74
Время восстановления (секунды)		49	49	48	46	48	45	53	49	44
Анализ восстановленного лекарственного препарата ^b										
Окраска и внешний вид		Удовлетворительный	Удовлетворительный	Удовлетворительный	Удовлетворительный	Удовлетворительный	Удовлетворительный	Удовлетворительный	Удовлетворительный	Удовлетворительный
Мутность (увеличение OD при 405 нм)		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,01	0,00	0,00	0,01
pH		6,0	6,0	6,0	6,0	6,0	6,0	6,0	6,0	6,0
Анализ твердых частиц с помощью MFI (частицы/контейнер)	2-10 мкм	176	NR	129	207	NR	163	NR	193	710
	≥ 10 мкм	7	NR	3	5	NR	3	NR	8	11
	≥ 25 мкм	3	NR	0	0	NR	2	NR	0	2
% извлеченного белка согласно RP-UPLC		100	105	107	107	107	106	109	104	109
Чистота согласно MCE-SDS В невосстанавливающих условиях; % главного пика		100	NR	100	100	NR	100	NR	100	100

	В восстановл ивающих условиях; % тяжелой+л егкой цепей	100	NR	100	100	NR	100	NR	100	100
Чистота согласно SE- UPLC	% HMW	0,7	0,7	0,7	0,7	0,6	0,7	0,7	0,7	0,7
	% нативных	99,0	99,0	98,9	98,9	98,9	98,9	98,8	98,7	98,8
	% LMW	0,4	0,4	0,5	0,4	0,4	0,4	0,5	0,6	0,6
Анализ вариантов, отличающих ся зарядами, с помощью CEX-UPLC	% кислых	48,8	48,4	49,1	49,3	48,3	49,4	49,3	49,7	49,6
	% главного	47,7	47,9	46,7	46,6	47,7	47,0	47,8	46,2	47,0
	% основных	3,5	3,7	4,3	4,1	4,0	3,6	2,9	4,0	3,5
	% гликирова нных	27,1	27,1	27,1	26,9	26,9	26,5	26,3	24,9	25,7
Анализ вариантов, отличающих ся зарядами, с помощью iCIEF	% кислых	47,5	NR	47,8	47,6	NR	45,6	NR	46,9	46,0
	% главного	43,5	NR	43,1	43,0	NR	45,0	NR	43,8	44,9
	% основных	9,0	NR	9,1	9,3	NR	9,4	NR	9,4	9,1
% относительной активности (биологический анализ)		70	NR	139	110	NR	109	NR	88	84

^a CEX: катионообменный; DS: лекарственное вещество; FDG: группа разработки составов; HMW: высокомолекулярный; iCIEF: капиллярное изоэлектрическое фокусирование под визуализационным контролем; LMW: низкомолекулярный; MCE: капиллярный электрофорез на микрочипе; MFI: визуализация микропотока™; NR: не требуется; OD: оптическая плотность; RP: обращенно-фазовый; SDS: додецилсульфат натрия; SE: эксклюзионный; UPLC: сверхэффективная жидкостная хроматография

b Образцы восстанавливали стерильной WFI до 2 мг/мл mAb1

Таблица 11. Исследование стабильности лиофилизованного лекарственного препарата на основе mAb1 при хранении в условиях ускоренного старения

Состав лиофилизацией	перед	2 мг/мл mAb1, 10 mM гистидина, pH 6,0, 10% (вес/об.) сахарозы, 0,05% (вес/об.) полисорбата 20			
Объем наполнения		2,5 мл			
Контейнер/укупорочный элемент		Флакон на 5 мл из боросиликатного стекла 1 типа с пробкой West V10-F597W 4432/50 B2-TR			
		Без хранения	Хранение при 25°C/RH 60% (месяцы)		Хранение при 37°C (месяцы)
Анализ	t=0	3	6	1	3
Анализ лиофилизованного лекарственного препарата					
Внешний вид лиофилизованной массы	вид	Удовлетворительный	Удовлетворительный	Удовлетворительный	Удовлетворительный
% влаги		0,44	0,60	0,80	NR
Время восстановления (секунды)		49	48	50	43
Анализ восстановленного лекарственного препарата^a					
Окраска и внешний вид		Удовлетворительный	Удовлетворительный	Удовлетворительный	Удовлетворительный
Мутность (увеличение OD при 405 нм)		0,00	0,00	0,00	0,00
pH		6,0	6,0	6,0	6,0
Анализ твердых частиц помощью MFI (частицы/контейнер)	2-10 мкм	176	277	133	NR
	≥ 10 мкм	7	0	8	NR
	≥ 25 мкм	3	0	3	NR
% извлеченного белка согласно RP-UPLC		100	106	108	105
Чистота согласно MCE SDS	Вневозможности	100	100	100	100

	х условиях; % главного пика					
	В восстанавл ивающих условиях; % тяжелой+л егкой цепей	100	100	100	100	100
Чистота согласно UPLC	% HMW	0,7	0,7	0,7	0,7	0,7
	SE- нативных	99,0	98,9	98,9	98,9	98,8
	% LMW	0,4	0,5	0,5	0,5	0,5
Анализ вариантов, отличающихся зарядами, с помощью CEХ- UPLC	% кислых	48,8	49,0	49,1	48,1	48,5
	% главного	47,7	46,7	46,3	48,0	46,6
	% основных	3,5	4,4	4,6	3,9	4,9
	% гликирован ных	27,1	27,0	26,7	27,0	26,5
Анализ вариантов, отличающихся зарядами, с помощью iCIEF	% кислых	47,5	46,5	47,4	47,7	46,1
	% главного	43,5	44,6	43,1	42,8	44,5
	% основных	9,0	9,0	9,4	9,5	9,3
% активности (биологический анализ)	относительной	70	121	95	NR	111

^a Образцы восстанавливали стерильной WFI до 2 мг/мл mAb1

CEX: катионообменный; DS: лекарственное вещество; FDG: группа разработки составов; HMW: высокомолекулярный; iCIEF: капиллярное изоэлектрическое фокусирование под визуализационным контролем; LMW: низкомолекулярный; MCE:

капиллярный электрофорез на микрочипе; MFI: визуализация микропотока™; NR: не требуется; OD: оптическая плотность; RP: обращенно-фазовый; SDS: додецилсульфат натрия; SE: эксклюзионный; UPLC: сверхэффективная жидкостная хроматография

Таблица 12. Исследование стабильности 50 мг лиофилизированного лекарственного препарата на основе mAb1 при хранении при 5°C

Состав перед лиофилизацией		20 мг/мл mAb1, 10 mM гистидина, pH 6,0, 10% (вес/об.) сахарозы, 0,05% (вес/об.) полисорбата 20								
Объем наполнения		2,5 мл								
Контейнер/укупорочный элемент		Флакон на 5 мл из боросиликатного стекла 1 типа с пробкой West V10-F597W 4432/50 B2-TR								
		Длительность хранения при 5°C (месяцы)								
Анализ^a		0	1	3	6	9	12	18	24	36^b
Анализ лиофилизированного лекарственного препарата										
Внешний вид лиофилизированной массы	Удовл	Удов	Удов	Удовл	Удовл	Удов	Удовл	Удовл	Удов	Удов
	етворительный	летворительный	летворительный	етворительный	етворительный	етворительный	етворительный	етворительный	етворительный	етворительный
% влаги	0,74	NR	NR	0,99	NR	1,16	NR	1,56	1,18	
Время восстановления (секунды)	49	44	60	66	55	53	48	47	29	
Анализ восстановленного лекарственного препарата^c										
Окраска и внешний вид	Удовл	Удов	Удов	Удовл	Удовл	Удов	Удовл	Удовл	Удов	Удов
	етворительный	летворительный	летворительный	етворительный	етворительный	етворительный	етворительный	етворительный	етворительный	етворительный
Мутность (увеличение OD при 405 нм)	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
pH	5,9	5,9	5,9	5,9	5,9	5,9	5,9	5,9	6,0	6,0
Анализ твердых частиц с помощью MFI (частицы/контейнер)	2-10 мкм	259	NR	NR	1274	NR	2707	NR	2343	NA
	≥ 10 мкм	30	NR	NR	28	NR	48	NR	21	NA
	≥ 25 мкм	5	NR	NR	3	NR	4	NR	1	NA
% извлеченного белка согласно	100	100	103	101	100	99	99	91	108	

RP-UPLC										
Чистота согласно MCE- SDS	В невосстанавли вающих условиях; главного пика	100	NR	NR	100	NR	100	NR	100	100
	В восстанавлива ющих условиях; тяжелой+легко й цепей	100	NR	NR	100	NR	100	NR	100	100
Чистота согласно SE- UPLC	% HMW	0,8	0,8	0,9	0,8	0,9	0,9	0,9	0,8	0,9
	% нативных	98,8	98,9	98,6	98,8	98,7	98,7	98,7	98,8	98,6
	% LMW	0,4	0,4	0,5	0,4	0,5	0,4	0,5	0,4	0,5
Анализ вариантов, отличающихся зарядами, с помощью CEХ- UPLC	% кислых	47,7	48,0	48,8	48,3	49,5	48,3	48,1	49,7	47,7
	% главного	47,1	47,3	45,9	46,8	42,5	45,3	46,2	43,8	46,7
	% основных	5,1	4,7	5,3	4,8	8,0	6,4	5,7	6,5	5,5
	% гликированных	24,4	24,0	24,5	24,2	21,3	22,1	23,2	22,2	23,0
Анализ вариантов, отличающихся зарядами, с помощью iCIEF	% кислых	45,1	NR	NR	44,8	NR	47,8	NR	47,7	47,2
	% главного	46,0	NR	NR	46,5	NR	45,5	NR	45,1	45,3
	% основных	8,8	NR	NR	8,7	NR	6,7	NR	7,2	7,4
% относительной активности (биологический анализ)		98	NR	NR	104	NR	104	NR	91	118

а СЕХ: катионообменный; DS: лекарственное вещество; FDG: группа разработки составов; HMW: высокомолекулярный; iCIEF: капиллярное изоэлектрическое фокусирование под визуализационным контролем; LMW: низкомолекулярный; MCE: капиллярный электрофорез на микрочипе; MFI: визуализация микропотока™; NA: данные недоступны; NR: не требуется; OD: оптическая плотность; RP: обращенно-фазовый; SDS: додецилсульфат натрия; SE: эксклюзионный; UPLC: сверхэффективная жидкостная хроматография

^b Данные MFI в момент времени 36 месяцев недоступны ввиду неисправностей в приборах и недостаточной доступности резервных образцов.

с Образцы восстанавливали стерильной WFI до 20 мг/мл mAb1

Таблица 13. Исследование стабильности 50 мг лиофилизованного лекарственного препарата на основе mAb1 при хранении в условиях ускоренного старения

Состав перед лиофилизацией		20 мг/мл mAb1, 10 mM гистидина, pH 6,0, 10% (вес/об.) сахарозы, 0,05% (вес/об.) полисорбата 20			
Объем наполнения		2,5 мл			
Контейнер/укупорочный элемент		Флакон на 5 мл из боросиликатного стекла 1 типа с пробкой West V10-F597W 4432/50 B2-TR			
		Хранение			
		Без хранения	при 25°C/RH 60% (месяцы)	Хранение при 50°C (месяцы)	
Анализ^a	t=0	6	1	3	
Анализ лиофилизованного лекарственного препарата					
Внешний вид лиофилизованной массы	Удовлетворительный	Удовлетворительный	Удовлетворительный	Удовлетворительный	
% влаги	0,74	1,00	NR	1,00	
Время восстановления (секунды)	49	48	55	62	
Анализ восстановленного лекарственного препарата^b					
Окраска и внешний вид	Удовлетворительный	Удовлетворительный	Удовлетворительный	Удовлетворительный	
Мутность (увеличение OD при 405 нм)	0,00	0,00	0,00	0,00	
pH	5,9	5,9	5,9	5,9	
Анализ твердых частиц с помощью MFI (частицы/контейнер)	2-10 мкм	259	1227	NR	11225
	≥ 10 мкм	30	36	NR	429
	≥ 25 мкм	5	9	NR	64
% извлеченного белка согласно RP-UPLC	100	99	100	99	
Чистота согласно MCE-SDS	Вневозстановл	100	100	NR	100

	ивающих условиях; % главного пика				
	В восстанавлив ающих условиях; % тяжелой+лег кой цепей	100	100	NR	100
Чистота согласно SE-UPLC	% HMW	0,8	1,1	0,9	1,1
	% нативных	98,8	98,4	98,7	98,3
	% LMW	0,4	0,5	0,4	0,5
Анализ вариантов, отличающихся зарядами, помощью CEX- UPLC	% кислых	47,7	47,4	44,5	43,9
	% главного	47,1	46,9	47,2	43,4
	% основных	5,1	5,7	8,4	12,7
	% гликированн ых	24,4	23,7	22,3	20,5
Анализ вариантов, отличающихся зарядами, помощью iCIEF	% кислых	45,1	48,4	NR	48,4
	% главного	46,0	45,3	NR	38,8
	% основных	8,8	6,3	NR	12,8
% относительной активности (биологический анализ)		98	118	NR	NR

а CEX: катионообменный; DS: лекарственное вещество; FDG: группа разработки составов; HMW: высокомолекулярный; iCIEF: капиллярное изоэлектрическое фокусирование под визуализационным контролем; LMW: низкомолекулярный; MCE: капиллярный электрофорез на микрочипе; MFI: визуализация микропотока; NR: не требуется; OD: оптическая плотность; RP: обращенно-фазовый; SDS: додецилсульфат натрия; SE: эксклюзионный; UPLC: сверхэффективная жидкостная хроматография

б Образцы восстанавливали стерильной WFI до 20 мг/мл mAb1

[0150] Также проводили дополнительные исследования стабильности для восстановленного лекарственного препарата на основе mAb1 для оценивания стабильности восстановленного лекарственного препарата в случае инкубации при 25°C в течение вплоть до 24 часов, а также в условиях стресса (перемешивания). Лиофилизированный лекарственный препарат (2,5 мл составленного лекарственного

вещества во флаконах на 5 мл из стекла 1 типа) восстанавливали до 2 мг/мл mAb1 или 20 мг/мл mAb1 с помощью 2,3 мл WFI (до конечного объема 2,5 мл). Результаты этих исследований стабильности показаны в таблицах 14 и 15 ниже. Было обнаружено, что растворы восстановленного лекарственного препарата на основе mAb1 при 2 мг/мл mAb1 и 20 мг/мл mAb1 являются физически и химически стабильными в случае инкубации при 25°C в течение 24 часов. Существенных изменений в физической или химической стабильности не было выявлено ни по одному из контролируемых свойств. Эти данные указывают на то, что восстановленный лекарственный препарат является стабильным при комнатной температуре. Также было обнаружено, что растворы восстановленного лекарственного препарата на основе mAb1 при 2 мг/мл mAb1 и 20 мг/мл mAb1 являются физически и химически стабильными в случае перемешивания (встряхивания вихревым способом при температуре окружающей среды) в течение 60 минут. Существенных изменений в физической или химической стабильности не было выявлено ни по одному из контролируемых свойств.

Таблица 14. Исследование стабильности восстановленного лекарственного препарата на основе mAb1 для IV введения

Состав	2 мг/мл mAb1, 10 мМ гистидина, pH 6,0, 10% (вес/об.) сахарозы, 0,05% (вес/об.) полисорбата 20					
Объем наполнения	2,5 мл					
Контейнер/укупорочный элемент	Флакон на 5 мл из боросиликатного стекла 1 типа с пробкой West V10-F597W 4432/50 B2-TR					
Анализ	Без стресса	Перемешивание (минуты)		Хранение при 25°C (часы)		
	t=0	30	60	8	24	
Окраска и внешний вид	Удовлетворительный	Удовлетворительный	Удовлетворительный	Удовлетворительный	Удовлетворительный	
Мутность (увеличение OD при 405 нм)	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	
pH	6,0	6,0	6,0	6,0	6,0	
Анализ твердых частиц с помощью MFI (частицы/мл)	2-10 мкм	1066	NR	3183	NR	407
	≥ 10 мкм	68	NR	60	NR	13
	≥ 25 мкм	6	NR	9	NR	5
% общего извлеченного белка согласно RP-UPLC	100	100	100	100	101	
Чистота согласно В	100	NR	100	NR	100	

MCE-SDS ^a	невосстанавливаемых условиях; % главного пика					
	В восстанавливаемых условиях; % тяжелой+легкой цепей	100	NR	100	NR	100
Чистота согласно SE-UPLC	% HMW	0,6	0,6	0,6	0,6	0,6
	% нативных	99,0	98,9	98,9	98,9	99,0
	% LMW	0,4	0,5	0,5	0,5	0,4
Анализ вариантов, отличающихся зарядами, помощью CEХ-UPLC	% кислых	50,0	50,0	50,1	50,1	47,9
	% главного	45,1	45,1	45,1	45,2	46,2
	% основных	4,9	4,9	4,8	4,7	5,9
	% гликированных	23,8	23,6	23,6	23,5	24,4
Анализ вариантов, отличающихся зарядами, помощью iCIEF	% кислых	48,4	NR	48,4	NR	48,3
	% главного	43,6	NR	43,6	NR	43,6
	% основных	8,0	NR	8,0	NR	8,1
% относительной активности согласно биологическому анализу		88	NR	92	NR	94

CEX: катионообменный; DS: лекарственное вещество; FDG: группа разработки составов; HMW: высокомолекулярный; iCIEF: капиллярное изоэлектрическое фокусирование под визуализационным контролем; LMW: низкомолекулярный; MCE: капиллярный электрофорез на микрочипе; MFI: визуализация микропотока[™]; NR: не требуется; OD: оптическая плотность; RP: обращенно-фазовый; SDS: додецилсульфат натрия; SE: эксклюзионный; UPLC: сверхэффективная жидкостная хроматография

Таблица 15. Исследование стабильности восстановленного лекарственного препарата на основе 20 мг/мл mAb1 для IV введения

Состав		20 мг/мл mAb1, 10 mM гистидина, pH 6,0, 10% (вес/об.) сахарозы, 0,05% (вес/об.) полисорбата 20				
Объем наполнения		2,5 мл				
Контейнер/укупорочный элемент		Флакон на 5 мл из боросиликатного стекла 1 типа с пробкой West V10-F597W 4432/50 B2-TR				
Анализ		Без стресса	Перемешивание (минуты)		Хранение при 25°C (часы)	
		t=0	30	60	8	24
Окраска и внешний вид		Удовлетворительный	Удовлетворительный	Удовлетворительный	Удовлетворительный	Удовлетворительный
Мутность (увеличение OD при 405 нм)		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
pH		6,0	6,0	6,0	6,0	6,0
Анализ твердых частиц с помощью MFI (частицы/мл)	2-10 мкм	8437	NR	4282	NR	2799
	≥ 10 мкм	1387	NR	134	NR	345
	≥ 25 мкм	249	NR	15	NR	74
% общего извлеченного белка согласно RP-UPLC		100	101	100	101	102
Чистота согласно MCE-SDS ^a	В невосстанавливающих условиях; % главного пика	100	NR	100	NR	100
	В восстанавливающих условиях; % тяжелой+легкой цепей	100	NR	100	NR	100
Чистота согласно SE-UPLC	% HMW	0,8	0,8	0,8	0,8	0,8
	% нативных	98,7	98,7	98,7	98,7	98,7
	% LMW	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5

Анализ вариантов, отличающихся зарядами, помощью CEX-UPLC	% кислых	47,7	47,7	47,4	47,6	47,4
	% главного	46,9	47,0	47,2	46,5	46,6
	% основных	5,4	5,4	5,5	5,9	6,0
	% гликированных	24,1	24,7	24,4	24,1	24,5
Анализ вариантов, отличающихся зарядами, помощью iCIEF	% кислых	47,3	NR	47,2	NR	47,5
	% главного	45,2	NR	45,0	NR	44,4
	% основных	7,6	NR	7,8	NR	8,1
% относительной активности согласно биологическому анализу		75	NR	64	NR	88

CEX: катионообменный; DS: лекарственное вещество; FDG: группа разработки составов; HMW: высокомолекулярный; iCIEF: капиллярное изоэлектрическое фокусирование под визуализационным контролем; LMW: низкомолекулярный; MCE: капиллярный электрофорез на микрочипе; MFI: визуализация микропотока[™]; NR: не требуется; OD: оптическая плотность; RP: обращенно-фазовый; SDS: додецилсульфат натрия; SE: эксклюзионный; UPLC: сверхэффективная жидкостная хроматография

[0151] Результаты исследований стабильности лекарственного препарата на основе mAb1 при хранении и в условиях стресса указывают на то, что mAb1 является стабильным. Состав на основе mAb1 способен выдерживать кратковременные воздействия комнатной температуры без нарушения физической или химической стабильности. Состав на основе mAb1 также является стабильным при восстановлении до концентрации 2 мг/мл или 20 мг/мл. Воздействие на восстановленный лекарственный препарат на основе mAb1 температуры 25°C в течение вплоть до 24 часов не нарушит целостность белка, что также справедливо и для перемешивания восстановленного лекарственного препарата.

[0152] Показатели объема после восстановления лекарственного препарата на основе mAb1 показаны в таблицах 16 и 17 ниже.

Таблица 16. Показатели объема после восстановления, избыточного объема и объема, отбираемого для введения, для лекарственного препарата на основе 5 мг/мл mAb1, восстановленного для IV введения

Компонент состава	Восстановленный для IV введения
Концентрация mAb1 в FDS (перед лиофилизацией)	2 мг/мл
Количество белка на флакон	5 мг
Концентрация mAb1 в восстановленном DP	2 мг/мл

Компонент состава	Восстановленный для IV введения
Концентрация mAb1 в FDS (перед лиофилизацией)	2 мг/мл
Количество белка на флакон	5 мг
Объем наполнения	2,5 мл
Объем WFI для восстановления	2,3 мл
Конечный объем после восстановления	2,5 мл
Избыточный объем	0,5 мл
Объем, доступный для отбора	2,0 мл

DP: лекарственный препарат; FDS: составленное лекарственное вещество; IV: внутривенный; WFI: вода для инъекций

Таблица 17. Показатели объема после восстановления, избыточного объема и объема, отбираемого для введения, для DP на основе 50 мг/мл mAb1, восстановленного для IV введения

Компонент состава	Восстановленный для IV введения
Концентрация mAb1 в FDS (перед лиофилизацией)	20 мг/мл
Количество белка на флакон	50 мг
Концентрация mAb1 в восстановленном DP	20 мг/мл
Целевой объем наполнения	2,5 мл
Объем WFI для восстановления	2,3 мл
Конечный объем после восстановления	2,5 мл
Избыточный объем	0,5 мл
Объем, доступный для отбора	2,0 мл

DP: лекарственный препарат; FDS: составленное лекарственное вещество; IV: внутривенный; WFI: вода для инъекций

[0153] Проводили исследования по изучению стабильности для определения стабильности при длительном хранении, в условиях ускоренного старения (при более высоких температурах, чем в условиях хранения) и стабильности в условиях стресса (40°C/RH 75%, перемешивание, замораживание и размораживание) лекарственного вещества на основе mAb1 (≥ 180 мг/мл mAb1, 30 мМ ацетата, 5% вес/об. сахарозы, pH 5,0) и составленного лекарственного вещества (50 мг/мл mAb1, 30 мМ ацетата, 10% вес/об. сахарозы, 0,2% вес/об. полисорбата 20, pH 5,0), как обсуждается в более полной мере ниже.

[0154] Существенных изменений в физической или химической стабильности лекарственного вещества на основе mAb1 в случае хранения при -80°C и -30°C в течение

вплоть до 24 месяцев выявлено не было (см. таблицы 18 и 19). Эти результаты указывают на то, что лекарственное вещество на основе mAb1 является стабильным в течение по меньшей мере 24 месяцев в случае хранения в замороженном состоянии в условиях хранения. Результаты исследований по изучению стабильности в условиях ускоренного старения представлены в таблицах 20-22. Существенные изменения не наблюдались ни по одному из контролируемых свойств после инкубации при -20°C в течение вплоть до 6 месяцев. Наблюдалось увеличение концентрации белка согласно данным SoloVPE после инкубации при 5°C и $25^{\circ}\text{C}/\text{RH } 60\%$ в течение вплоть до 6 месяцев, что, вероятно, было обусловлено испарением образца. Наблюдалось увеличение количества HMW-соединений согласно SE-UPLC и MCE в невосстанавливающих условиях после инкубации при 5°C и $25^{\circ}\text{C}/\text{RH } 60\%$ в течение вплоть до 6 месяцев. Наблюдалось уменьшение области 1 (кислые соединения) с сопутствующим увеличением области 2 (главный пик) согласно CEX-UPLC после инкубации при 5°C и $25^{\circ}\text{C}/\text{RH } 60\%$ в течение 6 месяцев ввиду дегликирования по HC-CDR3-Lys98 в плече для MUC16. Наблюдалось увеличение области 1 (кислые соединения) с сопутствующим уменьшением области 2 (главный пик) согласно iCIEF после инкубации при $25^{\circ}\text{C}/\text{RH } 60\%$ в течение 6 месяцев, что, вероятно, было обусловлено дезамидированием. Эти результаты указывают на то, что лекарственное вещество на основе mAb1 способно выдерживать инкубацию при -20°C в течение по меньшей мере 6 месяцев без нарушения физической либо химической стабильности белка. Результаты исследований по изучению стабильности в условиях стресса представлены в таблицах 23, и 24, и 17. Лекарственное вещество на основе mAb1 было физически и химически стабильным в случае перемешивания (встряхивания вихревым способом) в течение 10 минут или воздействия 4 циклов замораживания/размораживания. Наблюдалось увеличение концентрации белка согласно данным SoloVPE после инкубации при $40^{\circ}\text{C}/\text{RH } 75\%$ в течение вплоть до 3 месяцев, что, вероятно, было обусловлено испарением образца. Наблюдалось увеличение интенсивности окраски после инкубации при $40^{\circ}\text{C}/\text{RH } 75\%$ в течение 3 месяцев. Наблюдалось увеличение количества HMW- и LMW-соединений согласно SE-UPLC и MCE после инкубации при $40^{\circ}\text{C}/\text{RH } 75\%$ в течение вплоть до 3 месяцев. Наблюдалось уменьшение области 1 с сопутствующим увеличением области 2 согласно CEX-UPLC после инкубации при $40^{\circ}\text{C}/\text{RH } 75\%$ ввиду дегликирования по HC-CDR3-Lys98 в плече для MUC16. Наблюдалось увеличение области 3 с сопутствующим уменьшением области 2 согласно CEX-UPLC после инкубации при $40^{\circ}\text{C}/\text{RH } 75\%$ в течение 3 месяцев. Увеличение области 3 обусловлено увеличением пика основных соединений, элюируемого в ходе стадии элюирования высокосолевым буфером, необходимой для CEX-UPLC. Результаты, полученные в условиях ускоренного старения и в условиях стресса, указывали на то, что HMW, LMW и варианты, отличающиеся зарядами, являются основными путями разрушения лекарственного вещества на основе mAb1.

Таблица 18. Стабильность лекарственного вещества на основе mAb1 при -80°C

Состав		182,0 мг/мл mAb1, 30 mM ацетата, 5% (вес/об.) сахарозы, pH 5,0								
Контейнер/укупорочный элемент		Флакон на 5 мл из гамма-облученного поликарбоната с укупорочным элементом из HDPE								
Анализ		Длительность хранения при -80°C (месяцы)								
		0	1	3	6	9	12	18	24	36
Физическая форма/состояние		LEFV P	LEFV P	LEFV P	LEFV P	LEFV P	LEFV P	LEFV P	LEFVP	
Прозрачность		He > I	He > I	He > I	He > I	He > I	He > I	He > I	He > I	
Окраска		He > BY3	He > BY3	He > BY3	He > BY3	He > BY3	He > BY2	He > BY2	He > BY3	
pH		5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	4,9	4,9	5,0	
Общий белок (мг/мл)		181,1	181,9	185,6	189,5	189,2	181,4	183,3	186,1	
Активность (%)		126	NR	NR	106	NR	87	NR	80	
MCE восстанавливающих условиях (%)	Чистота	97,0	97,5	97,2	97,2	97,3	97,1	97,8	96,9	
	LMW	0,4	0,4	0,4	0,5	0,2	0,5	0,2	0,8	
MCE невосстанавливающих условиях (%)	Чистота	97,7	97,8	97,7	97,6	96,1	97,0	97,1	97,4	
	LMW	1,8	1,8	1,7	1,7	2,8	2,4	1,7	1,6	
SE-UPLC (%)	Чистота	98,3	98,2	98,3	98,2	98,2	98,3	98,3	98,3	
	LMW	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	
	HMW	1,7	1,9	1,8	1,8	1,8	1,7	1,7	1,7	
CEX-UPLC (%)	Область 1	51,5	51,7	51,4	51,1	51,7	52,0	52,2	51,8	
	Гликированные	35,8	34,9	34,5	35,1	35,0	34,9	35,0	34,6	
	Область 2	44,6	44,2	44,7	44,9	43,6	43,4	43,5	43,6	
	Область 3	4,0	4,0	3,9	4,0	4,7	4,7	4,3	4,6	

CEX: катионообменный; HDPE: полиэтилен высокой плотности; HMW:

высокомолекулярный; LEFVP: жидкость, практически не содержащая видимых частиц; LMW: низкомолекулярный; MCE: капиллярный электрофорез на микрочипе; не > BY2: интенсивность окраски не превышает таковую у эталонного раствора BY2; не > BY3: интенсивность окраски не превышает таковую у эталонного раствора BY3; не > I: мутность не превышает таковую у эталонной суспензии I; NR: не требуется; SE: эксклюзионный; UPLC: сверхэффективная жидкостная хроматография

Таблица 19. Стабильность лекарственного вещества на основе mAb1 при -30°C

Состав		182,0 мг/мл mAb1, 30 mM ацетата, 5% (вес/об.) сахарозы, pH 5,0								
Контейнер/укупорочный элемент		Флакон на 5 мл из гамма-облученного поликарбоната с укупорочным элементом из HDPE								
Анализ		Длительность хранения при -30°C (месяцы)								
		0	1	3	6	9	12	18	24	36
Физическая форма/состояние		LEFVP	LEFVP	LEFVP	LEFVP	LEFVP	LEFVP	LEFVP	LEFVP	
Прозрачность		He > I	He > I	He > I	He > I	He > I	He > I	He > I	He > I	
Окраска		He > BY3	He > BY3	He > BY3	He > BY3	He > BY3	He > BY2	He > BY2	He > BY3	
pH		5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	4,9	5,0	
Общий белок (мг/мл)		181,1	187,2	182,7	187,1	181,1	185,8	182,6	188,3	
Активность (%)		126	NR	NR	106	NR	92	NR	105	
MCE в восстанавливающих условиях (%)	Чистота	97,0	97,7	97,5	96,9	97,1	97,1	97,4	96,6	
	LMW	0,4	0,3	0,3	0,5	0,3	0,5	0,2	0,8	
MCE в невосстанавливающих условиях (%)	Чистота	97,7	97,8	97,7	98,1	97,0	97,5	95,7	97,6	
	LMW	1,8	1,7	1,7	1,5	2,3	2,0	1,8	1,5	
SE-UPLC (%)	Чистота	98,3	98,2	98,2	98,2	98,2	98,2	98,2	98,1	
	LMW	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	
	HMW	1,7	1,8	1,8	1,8	1,8	1,8	1,8	1,9	
CEX-UPLC (%)	Область 1	51,5	51,8	51,4	51,2	51,5	51,8	52,2	51,7	
	Гликиро	35,8	34,9	34,7	35,1	34,9	34,6	35,1	34,5	

	ванные									
	Область 2	44,6	44,3	44,7	45,0	43,7	43,3	43,6	43,9	
	Область 3	4,0	3,9	3,9	3,9	4,7	4,9	4,3	4,5	

СЕХ: катионообменный; HDPE: полиэтилен высокой плотности; HMW: высокомолекулярный; LEFVP: жидкость, практически не содержащая видимых частиц; LMW: низкомолекулярный; МСЕ: капиллярный электрофорез на микрочипе; не > BY2: интенсивность окраски не превышает таковую у эталонного раствора BY2; не > BY3: интенсивность окраски не превышает таковую у эталонного раствора BY3; не > I: мутность не превышает таковую у эталонной суспензии I; NR: не требуется; SE: эксклюзионный; UPLC: сверхэффективная жидкостная хроматография

Таблица 20. Стабильность лекарственного вещества на основе mAb1 при хранении при -20°C

		182,0 мг/мл mAb1, 30 mM ацетата, 5% (вес/об.) сахарозы, pH 5,0			
Контейнер/укупорочный элемент		Флакон на 5 мл из гамма-облученного поликарбоната с укупорочным элементом из HDPE			
Анализ		Длительность хранения при -20°C (месяцы)			
		0	1	3	6
Физическая форма/состояние		LEFVP	LEFVP	LEFVP	LEFVP
Прозрачность		He > I	He > I	He > I	He > I
Окраска		He > BY3	He > BY3	He > BY3	He > BY3
pH		5,0	5,0	5,0	5,0
Общий белок (мг/мл)		181,1	185,2	187,1	189,4
МСЕ восстанавливающих условиях (%)	в Чистота	97,0	97,4	97,2	97,1
	LMW	0,4	0,6	0,5	0,5
МСЕ невосстанавливающих условиях (%)	в Чистота	97,7	97,4	97,5	97,4
	LMW	1,8	2,4	1,8	1,7
SE-UPLC (%)	Чистота	98,3	98,2	98,2	98,2
	LMW	0,0	0,0	0,0	0,0
	HMW	1,7	1,8	1,8	1,8

СЕХ-UPLC (%)	Область 1	51,5	51,7	51,3	51,2
	Гликированные	35,8	34,9	34,1	35,2
	Область 2	44,6	44,3	44,7	44,8
	Область 3	4,0	4,0	4,0	4,0

СЕХ: катионообменный; HDPE: полиэтилен высокой плотности; HMW: высокомолекулярный; LEFVP: жидкость, практически не содержащая видимых частиц; LMW: низкомолекулярный; МСЕ: капиллярный электрофорез на микрочипе; не > ВУЗ: интенсивность окраски не превышает таковую у эталонного раствора ВУЗ; не > I: мутность не превышает таковую у эталонной суспензии I; SE: эксклюзионный; UPLC: сверхэффективная жидкостная хроматография

Таблица 21. Стабильность лекарственного вещества на основе mAb1 при хранении при 5°C

Состав		182,0 мг/мл mAb1, 30 мМ ацетата, 5% (вес/об.) сахарозы, pH 5,0				
Контейнер/укупорочный элемент		Флаконт на 5 мл из гамма-облученного поликарбоната с укупорочным элементом из HDPE				
Анализ		Длительность хранения при 5°C (месяцы)				
		0	0,5	1	3	6
Физическая форма/состояние		LEFVP	LEFVP	LEFVP	LEFVP	LEFVP
Прозрачность		He > I	He > I	He > I	He > I	He > I
Окраска		He > ВУЗ	He > ВУЗ	He > ВУЗ	He > ВУЗ	He > ВУЗ
pH		5,0	5,0	5,0	5,0	5,0
Общий белок (мг/мл)		181,1	183,3	188,4	187,9	197,5
МСЕ восстанавливающих условиях (%)	Чистота	97,0	97,4	97,3	97,2	97,0
	LMW	0,4	0,4	0,3	0,4	0,6
МСЕ невосстанавливающих условиях (%)	Чистота	97,7	97,1	96,9	96,5	95,7
	LMW	1,8	2,3	2,3	1,8	2,1
SE-UPLC (%)	Чистота	98,3	97,9	97,6	97,0	96,5
	LMW	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	HMW	1,7	2,1	2,4	3,0	3,5
СЕХ-UPLC (%)	Область 1	51,5	50,0	50,8	49,3	47,9
	Гликированные	35,8	34,9	34,6	34,0	33,9

	е					
	Область 2	44,6	46,0	45,1	46,4	48,0
	Область 3	4,0	4,0	4,1	4,3	4,1

СЕХ: катионообменный; HDPE: полиэтилен высокой плотности; HMW: высокомолекулярный; LEFVP: жидкость, практически не содержащая видимых частиц; LMW: низкомолекулярный; МСЕ: капиллярный электрофорез на микрочипе; не > ВУЗ: интенсивность окраски не превышает таковую у эталонного раствора ВУЗ; не > I: мутность не превышает таковую у эталонной суспензии I; SE: эксклюзионный; UPLC: сверхэффективная жидкостная хроматография

Таблица 22. Стабильность лекарственного вещества на основе mAb1 при хранении при 25°C/RH 60%

Состав		182,0 мг/мл mAb1, 30 мМ ацетата, 5% (вес/об.) сахарозы, pH 5,0				
Контейнер/укупорочный элемент		Флакон на 5 мл из гамма-облученного поликарбоната с укупорочным элементом из HDPE				
Анализ		Длительность хранения при 25°C/RH 60% (месяцы)				
		0	0,5	1	3	6
Физическая форма/состояние		LEFVP	LEFVP	LEFVP	LEFVP	LEFVP
Прозрачность		He > I	He > I	He > I	He > I	He > I
Окраска		He > ВУЗ	He > ВУЗ	He > ВУЗ	He > ВУЗ	He > ВУЗ
pH		5,0	5,0	5,0	5,0	5,0
Общий белок (мг/мл)		181,1	184,0	180,1	203,1	207,9
МСЕ в восстанавливающих условиях (%)	Чистота	97,0	96,7	97,2	96,8	96,3
	LMW	0,4	0,5	0,4	0,6	0,7
МСЕ в невосстанавливающих условиях (%)	Чистота	97,7	96,5	96,1	94,9	93,7
	LMW	1,8	2,2	2,3	2,2	2,4
SE-UPLC (%)	Чистота	98,3	96,8	96,2	95,2	94,2
	LMW	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1
	HMW	1,7	3,2	3,8	4,8	5,7
СЕХ-UPLC (%)	Область 1	51,5	45,1	42,4	31,7	23,6
	Гликированные	35,8	31,9	29,0	19,4	13,5

	Область 2	44,6	50,7	53,5	63,7	71,2
	Область 3	4,0	4,2	4,2	4,6	5,2

СЕХ: катионообменный; HDPE: полиэтилен высокой плотности; HMW: высокомолекулярный; LEFVP: жидкость, практически не содержащая видимых частиц; LMW: низкомолекулярный; МСЕ: капиллярный электрофорез на микрочипе; не > ВУ2: интенсивность окраски не превышает таковую у эталонного раствора ВУ2; не > ВУ3: интенсивность окраски не превышает таковую у эталонного раствора ВУ3; не > I: мутность не превышает таковую у эталонной суспензии I; RH: относительная влажность; SE: эксклюзионный; UPLC: сверхэффективная жидкостная хроматография

Таблица 23. Стабильность лекарственного вещества на основе mAb1 при хранении при 40°C/RH 75%

Состав		182,0 мг/мл mAb1, 30 мМ ацетата, 5% (вес/об.) сахарозы, pH 5,0				
Контейнер/укупорочный элемент		Флакон на 5 мл из гамма-облученного поликарбоната с укупорочным элементом из HDPE				
Анализ		Длительность хранения при 40°C/RH 75% (месяцы)				
		0	0,25	0,5	1	3
Физическая форма/состояние		LEFVP	LEFVP	LEFVP	LEFVP	LEFVP
Прозрачность		He > I	He > I	He > I	He > I	He > I
Окраска		He > ВУ3	He > ВУ2	He > ВУ2	He > ВУ2	He > ВУ1
pH		5,0	5,0	5,0	5,0	5,0
Общий белок (мг/мл)		181,1	187,7	187,7	191,9	207,1
МСЕ в восстанавливающих условиях (%)	Чистота	97,0	97,1	96,8	96,0	93,9
	LMW	0,4	0,4	0,5	0,7	1,4
МСЕ в невосстанавливающих условиях (%)	Чистота	97,7	95,8	95,3	93,2	86,2
	LMW	1,8	1,9	2,2	3,7	5,6
SE-UPLC (%)	Чистота	98,3	95,0	92,6	88,4	78,1
	LMW	0,0	0,0	0,0	0,2	0,6
	HMW	1,7	5,0	7,4	11,4	21,3
СЕХ-UPLC (%)	Область 1	51,5	32,1	22,7	17,6	18,4
	Гликированные	35,8	21,4	13,5	7,4	9,3
	Область 2	44,6	62,5	70,3	71,7	55,7
	Область 3	4,0	5,5	7,0	10,6	25,9

СЕХ: катионообменный; HDPE: полиэтилен высокой плотности; HMW: высокомолекулярный; LEFVP: жидкость, практически не содержащая видимых частиц; LMW: низкомолекулярный; МСЕ: капиллярный электрофорез на микрочипе; не > ВУ1: интенсивность окраски не превышает таковую у эталонного раствора ВУ1; не > ВУ2: интенсивность окраски не превышает таковую у эталонного раствора ВУ2; не > ВУ3: интенсивность окраски не превышает таковую у эталонного раствора ВУ3; не > I: мутность не превышает таковую у эталонной суспензии I; RH: относительная влажность; SE: эксклюзионный; UPLC: сверхэффективная жидкостная хроматография

Таблица 24. Стабильность лекарственного вещества на основе mAb1 - эффект перемешивания и замораживания/размораживания

Состав		182,0 мг/мл mAb1, 30 mM ацетата, 5% (вес/об.) сахарозы, pH 5,0				
Контейнер/укупорочный элемент		Флакон на 5 мл из гамма-облученного поликарбоната с укупорочным элементом из HDPE				
Анализ	t=0	Перемешивание (минуты)		Замораживание/размораживание (циклы)		
		5	10	2	4	
Физическая форма/состояние		LEFVP	LEFVP	LEFVP	LEFVP	LEFVP
Прозрачность		He > I	He > I	He > I	He > I	He > I
Окраска		He > ВУ3	He > ВУ3	He > ВУ3	He > ВУ2	He > ВУ2
pH		5,0	5,0	5,0	5,0	5,0
Общий белок (мг/мл)		181,1	183,9	183,5	183,7	187,2
МСЕ в восстанавливающих условиях (%)	Чистота	97,0	NR	96,7	NR	97,1
	LMW	0,4	NR	0,5	NR	0,5
МСЕ в невосстанавливающих условиях (%)	Чистота	97,7	NR	97,9	NR	97,5
	LMW	1,8	NR	1,6	NR	1,9
SE-UPLC (%)	Чистота	98,3	98,3	98,3	98,3	98,2
	LMW	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	HMW	1,7	1,7	1,7	1,7	1,8
СЕХ-UPLC (%)	Область 1	51,5	51,5	51,4	49,9	50,6
	Гликированные	35,8	35,1	35,0	34,7	34,9
	Область 2	44,6	44,7	44,6	46,0	45,3

	Область 3	4,0	3,8	3,9	4,0	4,0
--	-----------	-----	-----	-----	-----	-----

СЕХ: катионообменный; HDPE: полиэтилен высокой плотности; HMW: высокомолекулярный; LEFVP: жидкость, практически не содержащая видимых частиц; LMW: низкомолекулярный; MCE: капиллярный электрофорез на микрочипе; не > BY2: интенсивность окраски не превышает таковую у эталонного раствора BY2; не > BY3: интенсивность окраски не превышает таковую у эталонного раствора BY3; не > I: мутность не превышает таковую у эталонной суспензии I; NR: не требуется; SE: эксклюзионный; UPLC: сверхэффективная жидкостная хроматография

[0155] Существенных изменений в физической или химической стабильности составленного лекарственного вещества на основе mAb1 в случае хранения при -80°C и -30°C в течение вплоть до 24 месяцев выявлено не было (см. таблицы 25 и 26). Эти результаты указывают на то, что составленное лекарственное вещество на основе mAb1 является стабильным в течение по меньшей мере 24 месяцев в случае хранения в замороженном состоянии в условиях хранения. Результаты исследований по изучению стабильности в условиях ускоренного старения представлены в таблицах 27-29. Не наблюдались существенные изменения по контролируемым свойствам после инкубации составленного лекарственного вещества на основе mAb1 при -20°C или 5°C в течение вплоть до 6 месяцев. Наблюдалось увеличение концентрации белка согласно данным SoloVPE после инкубации при $25^{\circ}\text{C}/\text{RH } 60\%$ в течение вплоть до 6 месяцев, что, вероятно, было обусловлено испарением образца. Наблюдалось увеличение количества HMW-соединений согласно SE-UPLC и MCE в невосстанавливающих условиях после инкубации при 5°C и $25^{\circ}\text{C}/\text{RH } 60\%$ в течение вплоть до 6 месяцев. Наблюдалось уменьшение области 1 (кислые соединения) с сопутствующим увеличением области 2 (главный пик) согласно СЕХ-UPLC после инкубации при $25^{\circ}\text{C}/\text{RH } 60\%$ в течение 6 месяцев ввиду дегликирования по HC-CDR3-Lys98 в плече для MUC16. Наблюдалось увеличение области 1 (кислые соединения) с сопутствующим уменьшением области 2 (главный пик) согласно iCIEF после инкубации при $25^{\circ}\text{C}/\text{RH } 60\%$ в течение 6 месяцев, что, вероятно, было обусловлено дезамидированием. Эти результаты указывают на то, что составленное лекарственное вещество на основе mAb1 способно выдерживать инкубацию при -20°C в течение по меньшей мере 6 месяцев и при 5°C в течение 3 месяцев без нарушения физической либо химической стабильности белка. Составленное лекарственное вещество на основе mAb1 также способно выдерживать кратковременные воздействия температуры $25^{\circ}\text{C}/\text{RH } 60\%$. Результаты исследований по изучению стабильности в условиях стресса представлены в таблицах 30 и 31. Составленное лекарственное вещество на основе mAb1 было физически и химически стабильным в случае перемешивания (встряхивания вихревым способом) в течение вплоть до 120 минут или воздействия вплоть до четырех циклов замораживания и размораживания (наблюдалось небольшое увеличение количества частиц согласно MFI после воздействия 4 циклов замораживания/размораживания). Наблюдалось увеличение концентрации белка согласно данным SoloVPE после инкубации при $40^{\circ}\text{C}/\text{RH } 75\%$ в течение вплоть до 3 месяцев, что, вероятно, было обусловлено испарением образца.

Наблюдалось увеличение количества HMW- и LMW-соединений согласно SE-UPLC и МСЕ после инкубации при 40°C/RH 75% в течение вплоть до 3 месяцев. Наблюдалось уменьшение области 1 с сопутствующим увеличением области 2 согласно CEX-UPLC после инкубации при 40°C/RH 75% ввиду дегликирования по HC-CDR3-Lys98 в плече для MUC16. После 2 месяцев инкубации при 40°C/RH 75% наблюдается уменьшение области 1 и сопутствующее увеличение области 2. Однако после момента времени три месяца тенденция меняется на противоположную, и наблюдается явное увеличение области 1 и области 3 с сопутствующим уменьшением области 2. Увеличение области 1, вероятно, обусловлено конкурирующим дезамидированием по аспарагину или глутамину, тогда как увеличение области 3 обусловлено увеличением пика основных соединений, элюируемого на стадии элюирования высокосолевым буфером. Результаты, полученные в условиях ускоренного старения и в условиях стресса, указывали на то, что HMW, LMW и варианты, отличающиеся зарядами, являются основными путями разрушения составленного лекарственного вещества на основе mAb1. Наблюдалось небольшое увеличение количества частиц размером 2-10 мкм согласно MFI после 4 циклов замораживания и размораживания.

Таблица 25. Стабильность составленного лекарственного вещества на основе mAb1 при -80°C

Состав		50 мг/мл mAb1, 30 мМ ацетата, 10% (вес/об.) сахарозы, 0,2% (вес/об.) полисорбата 20, pH 5,0							
Контейнер/укупорочный элемент		Флакон на 5 мл из гамма-облученного поликарбоната с укупорочным элементом из HDPE							
Анализ		Длительность хранения при -80°C (месяцы)							
		0	1	3	6	9	12	18	24
Физическая форма/состояние		LEFV P	LEFV P	LEFV P	LEFV P	LEFV P	LEFV P	LEFV P	LEFV P
Прозрачность		He > I	He > I	He > I	He > I	He > I	He > I	He > I	He > I
Окраска		He > BY4	He > BY4	He > BY4	He > BY4	He > BY4	He > BY4	He > BY4	He > BY5
pH		5,0	4,9	5,0	5,0	5,0	4,9	4,9	5,0
Общий белок (мг/мл)		51,6	52,4	50,1	51,9	51,0	49,7	51,2	52,2
Активность (%)		92	NR	NR	105	NR	91	NR	90
МСЕ в восстанавливающих условиях	Чистота	96,9	96,8	97,1	97,5	97,4	96,7	96,8	96,8
	LMW	0,4	0,5	0,4	0,5	0,5	0,5	0,9	0,9

рН		5,0	4,9	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0
Общий белок (мг/мл)		51,6	50,1	50,9	52,5	51,8	51,5	50,7	49,7
Активность (%)		92	NR	NR	105	NR	85	NR	94
МСЕ в восстанавливающихся условиях (%)	Чистота	96,9	96,6	96,5	97,2	97,4	97,3	96,8	96,8
	LMW	0,4	0,5	0,5	0,5	0,2	0,5	0,8	0,9
МСЕ в невосстанавливающихся условиях (%)	Чистота	97,6	98,0	97,6	97,4	97,2	97,6	97,9	97,8
	LMW	2,0	1,7	1,9	2,3	2,2	1,9	1,6	1,6
SE-UPLC (%)	Чистота	98,6	98,6	98,6	98,6	98,5	98,5	98,5	98,4
	LMW	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1	0,0	0,0
	HMW	1,4	1,4	1,4	1,4	1,5	1,5	1,5	1,6
СЕХ-UPLC (%)	Область 1	51,8	51,9	51,6	51,4	51,8	52,0	52,4	50,8
	Гликированные	35,3	35,1	34,7	35,1	34,9	34,9	35,2	34,3
	Область 2	44,5	44,1	44,7	44,8	43,7	43,2	43,6	44,8
	Область 3	3,7	4,0	3,8	3,8	4,5	4,7	4,1	4,4

СЕХ: катионообменный; HDPE: полиэтилен высокой плотности; HMW: высокомолекулярный; LEFVP: жидкость, практически не содержащая видимых частиц; LMW: низкомолекулярный; МСЕ: капиллярный электрофорез на микрочипе; не > BY4: интенсивность окраски не превышает таковую у эталонного раствора BY4; не > BY5: интенсивность окраски не превышает таковую у эталонного раствора BY5; не > I: мутность не превышает таковую у эталонной суспензии I; NR: не требуется; SE: эксклюзионный; UPLC: сверхэффективная жидкостная хроматография

Таблица 27. Стабильность составленного лекарственного вещества на основе mAb1 при хранении при -20°C

Состав	50 мг/мл mAb1, 30 mM ацетата, 10% (вес/об.) сахарозы, 0,2% (вес/об.) полисорбата 20, pH 5,0				
Контейнер/укупорочный элемент	Флаконт на 5 мл из гамма-облученного поликарбоната с укупорочным элементом из HDPE				
Анализ	Длительность хранения при -20°C (месяцы)				
	0	1	3	6	
Физическая форма/состояние	LEFVP	LEFVP	LEFVP	LEFVP	
Прозрачность	He > I	He > I	He > I	He > I	
Окраска	He > BY4	He > BY4	He > BY4	He > BY4	
pH	5,0	4,9	5,0	5,0	
Общий белок (мг/мл)	51,6	51,8	52,0	52,0	
MCE в восстанавливающих условиях (%)	Чистота	96,9	97,3	97,4	97,0
	LMW	0,4	0,4	0,4	0,5
MCE в невосстанавливающих условиях (%)	Чистота	97,6	97,9	97,5	97,6
	LMW	2,0	1,6	1,9	1,9
SE-UPLC (%)	Чистота	98,6	98,6	98,6	98,6
	LMW	0,0	0,0	0,0	0,0
	HMW	1,4	1,5	1,4	1,5
CEX-UPLC (%)	Область 1	51,8	51,9	51,5	51,3
	Гликированные	35,3	35,2	34,6	35,1
	Область 2	44,5	44,2	44,7	45,0
	Область 3	3,7	3,9	3,8	3,8

CEX: катионообменный; HDPE: полиэтилен высокой плотности; HMW: высокомолекулярный; LEFVP: жидкость, практически не содержащая видимых частиц; LMW: низкомолекулярный; MCE: капиллярный электрофорез на микрочипе; не > BY4: интенсивность окраски не превышает таковую у эталонного раствора BY4; не > I: мутность не превышает таковую у эталонной суспензии I; SE: эксклюзионный; UPLC: сверхэффективная жидкостная хроматография

Таблица 28. Стабильность составленного лекарственного вещества на основе mAb1 при хранении при 5°C

Состав	50 мг/мл mAb1, 30 мМ ацетата, 10% (вес/об.) сахарозы, 0,2% (вес/об.) полисорбата 20, pH 5,0					
Контейнер/укупорочный элемент	Флакон на 5 мл из гамма-облученного поликарбоната с укупорочным элементом из HDPE					
Анализ	Длительность хранения при 5°C (месяцы)					
	0	0,5	1	3	6	
Физическая форма/состояние	LEFVP	LEFVP	LEFVP	LEFVP	LEFVP	
Прозрачность	He > I	He > I	He > I	He > I	He > I	
Окраска	He > BY4	He > BY4	He > BY4	He > BY4	He > BY4	
pH	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	
Общий белок (мг/мл)	51,6	51,7	53,2	51,9	54,3	
MCE в восстанавливающих условиях (%)	Чистота	96,9	97,6	96,4	97,4	97,2
	LMW	0,4	0,4	0,5	0,4	0,7
MCE в невосстанавливающих условиях (%)	Чистота	97,6	97,6	97,9	97,4	97,0
	LMW	2,0	2,1	1,7	1,8	2,0
SE-UPLC (%)	Чистота	98,6	98,6	98,4	98,2	97,9
	LMW	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	HMW	1,4	1,4	1,6	1,8	2,1
CEX-UPLC (%)	Область 1	51,8	50,3	51,3	50,0	48,7
	Гликированные	35,3	35,1	34,5	34,7	33,8
	Область 2	44,5	45,9	44,9	46,1	47,7
	Область 3	3,7	3,8	3,8	3,9	3,7

CEX: катионообменный; HDPE: полиэтилен высокой плотности; HMW: высокомолекулярный; LEFVP: жидкость, практически не содержащая видимых частиц; LMW: низкомолекулярный; MCE: капиллярный электрофорез на микрочипе; не > BY4: интенсивность окраски не превышает таковую у эталонного раствора BY4; не > I: мутность не превышает таковую у эталонной суспензии I; SE: эксклюзионный; UPLC: сверхэффективная жидкостная хроматография

Таблица 29. Стабильность составленного лекарственного вещества на основе mAb1 при хранении при 25°C/RH 60%

Состав		50 мг/мл mAb1, 30 мМ ацетата, 10% (вес/об.) сахарозы, 0,2% (вес/об.) полисорбата 20, pH 5,0				
Контейнер/укупорочный элемент		Флакон на 5 мл из гамма-облученного поликарбоната с укупорочным элементом из HDPE				
Анализ		Длительность хранения при 25°C/RH 60% (месяцы)				
		0	0,5	1	3	6
Физическая форма/состояние		LEFVP	LEFVP	LEFVP	LEFVP	LEFVP
Прозрачность		He > I	He > I	He > I	He > I	He > I
Окраска		He > BY4	He > BY4	He > BY4	He > BY4	He > BY4
pH		5,0	5,0	5,0	5,0	5,0
Общий белок (мг/мл)		51,6	50,8	52,2	54,8	60,0
MCE восстанавливающих условиях (%)	в Чистота	96,9	96,3	96,1	97,0	96,6
	LMW	0,4	0,5	0,5	0,7	0,8
MCE невосстанавливающих условиях (%)	в Чистота	97,6	97,0	96,9	96,1	95,7
	LMW	2,0	2,4	2,3	2,3	2,4
SE-UPLC (%)	Чистота	98,6	98,3	97,9	97,3	96,7
	LMW	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1
	HMW	1,4	1,8	2,2	2,7	3,2
CEX-UPLC (%)	Область 1	51,8	45,5	42,6	31,4	24,0
	Гликированные	35,3	32,1	28,1	19,5	13,8
	Область 2	44,5	50,7	53,7	65,2	72,3
	Область 3	3,7	3,8	3,7	3,4	3,7

CEX: катионообменный; HDPE: полиэтилен высокой плотности; HMW: высокомолекулярный; LEFVP: жидкость, практически не содержащая видимых частиц; LMW: низкомолекулярный; MCE: капиллярный электрофорез на микрочипе; не > BY4: интенсивность окраски не превышает таковую у эталонного раствора BY4; не > I: мутность не превышает таковую у эталонной суспензии I; RH: относительная влажность; SE: эксклюзионный; UPLC: сверхэффективная жидкостная хроматография

Таблица 30. Стабильность составленного лекарственного вещества на основе mAb1 при хранении при 40°C/RH 75%

Состав	50 мг/мл mAb1, 30 мМ ацетата, 10% (вес/об.) сахарозы, 0,2% (вес/об.) полисорбата 20, pH 5,0
--------	---

Контейнер/укупорочный элемент	Флакон на 5 мл из гамма-облученного поликарбоната с укупорочным элементом из HDPE					
Анализ	Длительность хранения при 40°C/RH 75% (месяцы)					
	0	0,25	0,5	1	3	
Физическая форма/состояние	LEFVP	LEFVP	LEFVP	LEFVP	LEFVP	
Прозрачность	He > I	He > I	He > I	He > I	He > II	
Окраска	He > BY4	He > BY4	He > BY4	He > BY4	He > BY4	
pH	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	
Общий белок (мг/мл)	51,6	52,9	52,3	53,2	56,2	
MCE в восстанавливающих условиях (%)	Чистота	96,9	97,1	96,8	96,1	94,7
	LMW	0,4	0,5	0,5	1,0	1,3
MCE в невосстанавливающих условиях (%)	Чистота	97,6	96,4	96,2	95,2	90,4
	LMW	2,0	2,7	2,8	3,4	5,9
SE-UPLC (%)	Чистота	98,6	98,1	97,1	95,5	88,1
	LMW	0,0	0,0	0,0	0,2	0,5
	HMW	1,4	1,9	2,9	4,4	11,4
CEX-UPLC (%)	Область 1	51,8	32,4	23,0	20,6	26,4
	Гликированные	35,3	20,6	13,5	9,7	13,1
	Область 2	44,5	63,9	72,8	73,7	62,8
	Область 3	3,7	3,7	4,2	5,7	10,8

CEX: катионообменный; HDPE: полиэтилен высокой плотности; HMW: высокомолекулярный; LEFVP: жидкость, практически не содержащая видимых частиц; LMW: низкомолекулярный; MCE: капиллярный электрофорез на микрочипе; не > BY4: интенсивность окраски не превышает таковую у эталонного раствора BY4; не > I: мутность не превышает таковую у эталонной суспензии I; не > II: мутность не превышает таковую у эталонной суспензии II; RH: относительная влажность; SE: эксклюзионный; UPLC: сверхэффективная жидкостная хроматография

Таблица 31. Стабильность составленного лекарственного вещества на основе mAb1. Эффект перемешивания и замораживания/размораживания

Состав	50 мг/мл mAb1, 30 mM ацетата, 10% (вес/об.) сахарозы, 0,2% (вес/об.) полисорбата 20, pH 5,0
--------	---

Контейнер/укупорочный элемент		Флакон на 5 мл из гамма-облученного поликарбоната с укупорочным элементом из HDPE				
Анализ	t=0	Перемешивание (минуты)		Замораживание/размораживание (циклы)		
		60	120	2	4	
Физическая форма/состояние	LEFVP	LEFVP	LEFVP	LEFVP	LEFVP	
Прозрачность	He > I	He > I	He > I	He > I	He > I	
Окраска	He > BY4	He > BY4	He > BY4	He > BY4	He > BY4	
pH	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	
Общий белок (мг/мл)	51,6	51,7	52,9	50,3	51,7	
MCE восстанавливающих условиях (%)	Чистота	96,9	NR	97,7	NR	96,9
	LMW	0,4	NR	0,4	NR	0,5
MCE невосстанавливающих условиях (%)	Чистота	97,6	NR	97,4	NR	97,9
	LMW	2,0	NR	2,1	NR	1,8
SE-UPLC (%)	Чистота	98,6	98,6	98,6	98,6	98,6
	LMW	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	HMW	1,4	1,4	1,4	1,4	1,4
CEX-UPLC (%)	Область 1	51,8	51,7	51,7	50,2	50,7
	Гликированные	35,3	35,0	35,1	34,9	35,1
	Область 2	44,5	44,7	44,5	46,1	45,4
	Область 3	3,7	3,7	3,8	3,7	3,9

CEX: катионообменный; HDPE: полиэтилен высокой плотности; HMW: высокомолекулярный; LEFVP: жидкость, практически не содержащая видимых частиц; LMW: низкомолекулярный; MCE: капиллярный электрофорез на микрочипе; не > BY4: интенсивность окраски не превышает таковую у эталонного раствора BY4; не > I: мутность не превышает таковую у эталонной суспензии I; NR: не требуется; SE: эксклюзионный; UPLC: сверхэффективная жидкостная хроматография

[0156] Проводили исследования стабильности для оценивания стабильности в условиях хранения и в условиях ускоренного старения жидкого лекарственного препарата на основе mAb1. Жидкий лекарственный препарат, используемый для исследований стабильности в условиях хранения и в условиях ускоренного старения, изготавливали путем

розлива 2,5 мл составленного лекарственного вещества во флаконы ISO 6R из стекла 1 типа. Жидкий лекарственный препарат инкубировали в условиях хранения, ускоренного старения и стресса. Существенных изменений в физической или химической стабильности жидкого лекарственного препарата на основе mAb1 в случае хранения при 5°C в течение вплоть до 12 или 24 месяцев выявлено не было (см. таблицы 32 и 33). Эти результаты указывают на то, что жидкий лекарственный препарат на основе mAb1 является стабильным в течение по меньшей мере 12 или 24 месяцев в условиях хранения. Результаты исследований по изучению стабильности в условиях ускоренного старения представлены в таблицах 34 и 35. Наблюдалось уменьшение области 1 с сопутствующим увеличением области 2 согласно CEX-UPLC в случае хранения при 25°C/RH 60% в течение вплоть до 6 месяцев ввиду дегликирования по HC-CDR3-Lys98 в плече для MUC16. Наблюдалось увеличение области 1 с сопутствующим уменьшением области 2 согласно iCIEF после инкубации при 25°C/RH 60% в течение вплоть до 6 месяцев. Существенные изменения по другим контролируемым свойствам не наблюдалось. Результаты исследований по изучению стабильности в условиях стресса представлены в таблицах 34-37. Жидкий лекарственный препарат на основе mAb1 был физически и химически стабильным в случае перемешивания (встряхивания вихревым способом) в течение 120 минут. Наблюдалось увеличение количества HMW- и LMW-соединений согласно SE-UPLC после инкубации при 40°C/RH 75% в течение 3 месяцев. Наблюдалось увеличение количества LMW-соединений согласно MCE в восстанавливающих условиях и в невосстанавливающих условиях после инкубации при 40°C/RH 75% в течение 3 месяцев. Для вариантов, отличающихся зарядами, наблюдались разные тенденции согласно CEX-UPLC и iCIEF ввиду разной чувствительности каждого анализа. Наблюдалось увеличение области 1 с сопутствующим уменьшением области 2 согласно iCIEF после инкубации при 40°C/RH 75% в течение вплоть до 3 месяцев, что, вероятно, было обусловлено дезамидированием по аспарагину или глутамину. После инкубации в течение вплоть до 2 месяцев при 40°C/RH 75% имеет место уменьшение области 1 с сопутствующим увеличением области 2, наблюдаемое согласно CEX-UPLC. За этим следует явное увеличение области 1 с сопутствующим уменьшением области 2, наблюдаемое согласно CEX-UPLC в момент времени 3 месяца, что, вероятно, обусловлено конкурирующей реакцией дезамидирования. Наблюдалось уменьшение области 3 согласно iCIEF в момент времени 3 месяца в случае инкубации при 40°C/RH 75%. Наблюдалось увеличение количества частиц размером 2-10 мкм согласно MFI после 4 циклов замораживания и размораживания. Результаты, полученные в условиях ускоренного старения и в условиях стресса, указывали на то, что HMW, LMW и варианты, отличающиеся зарядами, являются основными путями разрушения жидкого лекарственного препарата на основе mAb1.

Таблица 32. Стабильность жидкого лекарственного препарата на основе 5,0 мг/мл mAb1 при хранении при 5°C

Состав	Лекарственный препарат на основе mAb1; стерильный, разлитый во флаконы рекомбинантный белок mAb1, 5,0 мг/мл, в водном забуференном растворе, рН 5,0, содержащем 30 мМ ацетата, 10% (вес/об.) сахарозы и 0,2% (вес/об.) полисорбата 20									
Контейнер/укупорочный элемент	Флакон (5 мл) 6R согласно USP/Ph. Eur. из боросиликатного стекла 1 типа; хлорбутиловая пробка с покрытием FluroTec [®] диаметром 20 мм; обжимной колпачок с отрывной накладкой Flip-Off [®] диаметром 20 мм									
Условие хранения	5°C									
Анализ	Длительность хранения (месяцы)									
	0	3	6	9	12	18	24	30	36	
Физическая форма/состояние	LEFVP	LEFVP	LEFVP	LEFVP	LEFVP	LEFVP	LEFVP	LEFVP		
Прозрачность	He > I	He > I	He > I	He > I	He > I	He > I	He > I	He > I		
Окраска	He > BY7	He > BY7	He > BY7	He > BY7	He > BY7	He > BY7	He > BY7	He > BY7		
рН	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0		
Общий белок (мг/мл)	5,2	5,2	5,2	5,2	5,2	5,2	5,2	5,2		
Активность (%)	135	NR	106	NR	107	NR	101			
Полисорбат 20 (%)	0,21	NR	0,20	NR	0,21	NR	0,21			
МСЕ в восстанавливающих условиях (%)	Чистота	97,5	97,3	96,9	97,2	96,9	97,4	96,8		
	LMW	0,2	0,3	0,5	0,1	0,6	0,1	0,3		
МСЕ в невосстанавливающих условиях (%)	Чистота	97,4	97,5	97,3	97,0	96,8	97,3	97,0		
	LMW	2,2	2,0	2,1	2,5	2,7	2,1	2,2		
SE-UPLC (%)	Чистота MP	98,5	98,6	98,5	98,5	98,5	98,4	98,4		
	LMW	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0		
	HMW	1,5	1,5	1,5	1,5	1,6	1,6	1,6		

Анализ вариантов, отличающихся зарядами, с помощью SEC-UPLC (%)	Область 1	41,0	39,6	38,8	37,7	37,0	35,9	34,3		
	Гликированные	28,6	27,0	27,2	26,6	25,9	25,1	23,7		
	Область 2	53,9	55,5	56,6	57,5	57,6	59,7	61,8		
Твердые частицы согласно методу светотени (количество/контейнер)	≥ 10 мкм	37	135	229	NR	1074	NR	1460		
	≥ 25 мкм	0	0	0	NR	8	NR	0		

SEC: катионообменный; HMW: высокомолекулярный; LEFVP: жидкость, практически не содержащая видимых частиц; LMW: низкомолекулярный; MCE: капиллярный электрофорез на микрочипе; MP: главный пик; не > BY7: интенсивность окраски не превышает таковую у эталонного раствора BY7; не > I: мутность не превышает таковую у эталонной суспензии I; NR: не требуется; Ph. Eur.: Европейская фармакопея; SE: эксклюзионный; UPLC: сверхэффективная жидкостная хроматография; USP: фармакопея США

Таблица 33. Стабильность жидкого лекарственного препарата на основе 50,0 мг/мл mAb1 при хранении при 5°C

Состав	Лекарственный препарат на основе mAb1; стерильный, разлитый во флаконы рекомбинантный белок mAb1, 50,0 мг/мл, в водном забуференном растворе, pH 5,0, содержащем 30 mM ацетата, 10% (вес/об.) сахарозы и 0,2% (вес/об.) полисорбата 20									
Контейнер/укупорочный элемент	Флакон (5 мл) 6R согласно USP/Ph. Eur. из боросиликатного стекла 1 типа; хлорбутиловая пробка с покрытием FluroTec [®] диаметром 20 мм; обжимной колпачок с отрывной накладкой Flip-Off [®] диаметром 20 мм									
Условие хранения	5°C									
Анализ	Длительность хранения (месяцы)									
	0	3	6	9	12	18	24	30	36	
Физическая форма/состояние	LEFV	LEFV	LEFV	LEFV	LEFV					
	P	P	P	P	P					

Прозрачность	He > III	He > III	He > III	He > III	He > III				
Окраска	He > BY5	He > BY5	He > BY5	He > BY5	He > BY5				
pH	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0				
Общий белок (мг/мл)	51,0	49,3	49,5	49,8	49,4				
Активность (%)	81	NR	104	NR	130				
Полисорбат 20 (%)	0,19	NR	0,20	NR	0,20				
МСЕ в восстанавли вающих условиях (%)	Чистот а	97,1	97,2	97,3	96,5	96,7			
	LMW	0,3	0,4	0,1	0,7	0,8			
МСЕ в невосстанав ливающих условиях (%)	Чистот а	96,9	97,2	97,0	97,0	96,8			
	LMW	2,3	2,0	2,1	2,1	2,3			
SE-UPLC (%)	Чистот а MP	97,9	97,9	97,8	97,7	97,6			
	LMW	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0			
	HMW	2,1	2,1	2,2	2,3	2,4			
Анализ вариантов, отличающи хся зарядами, с помощью CEX-UPLC (%)	Област ь 1	39,9	38,9	38,1	37,4	36,9			
	Гликир ованны е	28,0	27,0	26,8	26,4	26,1			
	Област ь 2	54,3	55,8	56,6	57,8	58,1			
	Област ь 3	5,8	5,3	5,3	4,9	5,1			
Твердые частицы	≥ 10 мкм	25	18	62	NR	49			

согласно методу светотени (количество / контейнер)	≥ 25 мкм	2	0	0	NR	0				
---	------------------	---	---	---	----	---	--	--	--	--

СЕХ: катионообменный; НМВ: высокомолекулярный; LEFVP: жидкость, практически не содержащая видимых частиц; LMW: низкомолекулярный; МСЕ: капиллярный электрофорез на микрочипе; МР: главный пик; не > ВУ5: интенсивность окраски не превышает таковую у эталонного раствора ВУ5; не > III: мутность не превышает таковую у эталонной суспензии III; NR: не требуется; Ph. Eur.: Европейская фармакопея; SE: эксклюзионный; UPLC: сверхэффективная жидкостная хроматография; USP: фармакопея США

Таблица 34. Стабильность жидкого лекарственного препарата на основе 5,0 мг/мл mAb1 при хранении при 25°C/RH 60% и 40°C/RH 75%

Состав	Лекарственный препарат на основе mAb1; стерильный, разлитый во флаконы рекомбинантный белок mAb1, 5,0 мг/мл, в водном забуференном растворе, pH 5,0, содержащем 30 мМ ацетата, 10% (вес/об.) сахарозы и 0,2% (вес/об.) полисорбата 20						
Контейнер/ укупорочный элемент	Флакон (5 мл) 6R согласно USP/Ph. Eur. из боросиликатного стекла 1 типа; хлорбутиловая пробка с покрытием FluroTec® диаметром 20 мм; обжимной колпачок с отрывной накладкой Flip-Off® диаметром 20 мм						
Анализ	t=0	Хранение при 25°C/RH 60% (месяцы)			Хранение при 40°C/RH 75% (месяцы)		
		1	3	6	0,5	1	3
Физическая форма/состояние	LEFVP	LEFVP	LEFVP	LEFVP	LEFVP	LEFVP	LEFVP
Прозрачность	He > I	He > II	He > I	He > II	He > II	He > II	He > II
Окраска	He > ВУ7	He > ВУ7	He > ВУ7	He > ВУ7	He > ВУ7	He > ВУ7	He > ВУ7
pH	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0
Общий белок (мг/мл)	5,2	5,2	5,2	5,2	5,2	5,2	5,4
Полисорбат 20 (%)	0,21	NR	NR	0,21	NR	NR	0,20
МСЕ в Чистота	97,5	97,1	96,9	96,6	96,7	96,6	94,5

восстанавливающих условиях (%)	LMW	0,2	0,4	0,5	0,6	0,5	0,4	1,5
MCE	Чистота	97,4	97,0	97,1	96,9	97,0	96,1	92,9
невосстанавливающих условиях (%)	LMW	2,2	2,6	2,4	2,6	2,6	3,5	5,8
SE-UPLC (%)	Чистота	98,5	98,7	98,4	98,3	98,6	97,5	95,4
	MP							
	LMW	0,0	0,0	0,2	0,0	0,0	0,8	0,7
	HMW	1,5	1,3	1,5	1,7	1,4	1,7	3,9
Анализ вариантов, отличающихся зарядами, с помощью CEX-UPLC (%)	Область 1	41,0	31,5	24,6	19,7	17,8	14,2	26,2
	Гликированные	28,6	22,6	14,7	10,1	9,4	6,2	13,2
	Область 2	53,9	64,4	71,9	76,9	78,4	81,5	67,7
	Область 3	5,2	4,1	3,5	3,4	3,7	4,3	6,1
Твердые частицы согласно методу светотени (количество /контейнер)	≥ 10 мкм	37	NR	451	580	NR	NR	484
	≥ 25 мкм	0	NR	8	10	NR	NR	5

CEX: катионообменный; HMW: высокомолекулярный; LEFVP: жидкость, практически не содержащая видимых частиц; LMW: низкомолекулярный; MCE: капиллярный электрофорез на микрочипе; MP: главный пик; не > BY7: интенсивность окраски не превышает таковую у эталонного раствора BY7; не > I: мутность не превышает таковую у эталонной суспензии I; не > II: мутность не превышает таковую у эталонной суспензии II; NR: не требуется; Ph. Eur.: Европейская фармакопея; RH: относительная влажность; SE: эксклюзионный; UPLC: сверхэффективная жидкостная хроматография; USP: фармакопея США

Таблица 35. Стабильность жидкого лекарственного препарата на основе 50,0 мг/мл mAb1 при хранении при 25°C/RH 60% и 40°C/RH 75%

Состав	Лекарственный препарат на основе mAb1; стерильный, разлитый во флаконы рекомбинантный белок mAb1, 50,0 мг/мл, в водном забуференном растворе, pH 5,0, содержащем 30 мМ ацетата, 10% (вес/об.) сахарозы и 0,2% (вес/об.) полисорбата 20							
Контейнер/ укупорочный элемент	Флакон (5 мл) 6R согласно USP/Ph. Eur. из боросиликатного стекла 1 типа; хлорбутиловая пробка с покрытием FluroTec® диаметром 20 мм; обжимной колпачок с отрывной накладкой Flip-Off® диаметром 20 мм							
Анализ	t=0	Хранение при 25°C/RH 60% (месяцы)			Хранение при 40°C/RH 75% (месяцы)			
		1	3	6	0,5	1	3	
Физическая форма/состояние	LEFVP	LEFVP	LEFVP	LEFVP	LEFVP	LEFVP	LEFVP	
Прозрачность	He > III	He > III	He > III	He > III	He > III	He > III	He > III	
Окраска	He > BY5	He > BY5	He > BY5	He > BY5	He > BY5	He > BY5	He > BY4	
pH	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	
Общий белок (мг/мл)	51,0	48,6	50,3	51,0	49,5	49,3	51,1	
Полисорбат 20 (%)	0,19	NR	NR	0,20	NR	NR	0,19	
MSE в восстанавлива ющих условиях (%)	Чистота	97,1	97,4	96,7	96,5	96,7	95,9	93,5
	LMW	0,3	0,2	0,6	0,3	0,4	1,0	2,6
MSE в невосстанавлив ающих условиях (%)	Чистота	96,9	96,2	96,4	93,2	95,9	94,7	91,6
	LMW	2,3	2,9	2,5	3,0	2,9	3,8	6,0
SE-UPLC (%)	Чистота MP	97,9	97,8	97,5	97,4	97,0	96,1	90,4
	LMW	0,0	0,0	0,1	0,0	0,4	0,5	0,4
	HMW	2,1	2,2	2,5	2,6	2,6	3,5	9,2
Анализ вариантов, отличающихся зарядами,	Область 1	39,9	33,3	25,4	20,9	18,5	17,4	28,6
	Гликиро сванные	28,0	23,2	15,6	11,4	11,1	8,8	13,1

помощью СЕХ-UPLC (%)	Область 2	54,3	62,0	69,6	74,7	77,2	77,1	59,4
	Область 3	5,8	4,7	5,1	4,4	4,3	5,5	12,0
Твердые частицы согласно методу светотени (количество/ контейнер)	≥ 10 мкм	25	NR	55	75	NR	NR	20
	≥ 25 мкм	2	NR	1	1	NR	NR	1

СЕХ: катионообменный; HMW: высокомолекулярный; LEFVP: жидкость, практически не содержащая видимых частиц; LMW: низкомолекулярный; MCE: капиллярный электрофорез на микрочипе; MP: главный пик; не > BY4: интенсивность окраски не превышает таковую у эталонного раствора BY4; не > BY5: интенсивность окраски не превышает таковую у эталонного раствора BY5; не > III: мутность не превышает таковую у эталонной суспензии III; NR: не требуется; Ph. Eur.: Европейская фармакопея; RH: относительная влажность; SE: эксклюзионный; UPLC: сверхэффективная жидкостная хроматография; USP: фармакопея США

Таблица 36. Стабильность жидкого лекарственного препарата на основе 5,0 мг/мл mAb1. Эффект перемешивания и замораживания/размораживания

Состав	Лекарственный препарат на основе mAb1; стерильный, разлитый во флаконы рекомбинантный белок mAb1, 5,0 мг/мл, в водном забуференном растворе, pH 5,0, содержащем 30 mM ацетата, 10% (вес/об.) сахарозы и 0,2% (вес/об.) полисорбата 20				
Контейнер/ элемент	Флакон (5 мл) 6R согласно USP/Ph. Eur. из боросиликатного стекла 1 типа; хлорбутиловая пробка с покрытием FluroTec [®] диаметром 20 мм; обжимной колпачок с отрывной накладкой Flip-Off [®] диаметром 20 мм				
Анализ	T=0	Перемешивание (минуты)		Замораживание/ размораживание (циклы)	
		60	120	2	4
Физическая форма/состояние	LEFVP	LEFVP	LEFVP	LEFVP	LEFVP

Прозрачность		He > I	He > I	He > I	He > I	He > I
Окраска		He > BY7	He > BY7	He > BY7	He > BY7	He > BY7
pH		5,0	5,0	5,0	5,0	5,0
Общий белок (мг/мл)		5,2	5,2	5,2	5,2	5,2
Полисорбат 20 (%)		0,21	NR	0,20	NR	0,21
МСЕ в восстанавливающих условиях (%)	Чистота	97,5	NR	97,2	NR	97,3
	LMW	0,2	NR	0,2	NR	0,2
МСЕ в невосстанавливающих условиях (%)	Чистота	97,4	NR	97,2	NR	97,8
	LMW	2,2	NR	2,4	NR	1,9
SE-UPLC (%)	Чистота MP	98,5	98,3	98,3	98,4	98,5
	LMW	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	HMW	1,5	1,7	1,7	1,7	1,6
Анализ вариантов, отличающихся зарядами, с помощью СЕХ-UPLC (%)	Область 1	41,0	40,9	40,8	39,2	39,5
	Гликированные	28,6	28,5	28,5	28,1	28,1
	Область 2	53,9	53,9	54,2	55,7	55,3
	Область 3	5,2	5,2	5,1	5,1	5,2
Твердые частицы согласно методу светотени (количество/контейнер)	≥ 10 мкм	37	NR	125	NR	294
	≥ 25 мкм	0	NR	0	NR	15

СЕХ: катионообменный; HMW: высокомолекулярный; LEFVP: жидкость, практически не содержащая видимых частиц; LMW: низкомолекулярный; МСЕ: капиллярный электрофорез на микрочипе; MP: главный пик; не > BY7: интенсивность

окраски не превышает таковую у эталонного раствора BY7; не > I: мутность не превышает таковую у эталонной суспензии I; NR: не требуется; Ph. Eur.: Европейская фармакопея; SE: эксклюзионный; UPLC: сверхэффективная жидкостная хроматография; USP: фармакопея США

Таблица 37. Стабильность жидкого лекарственного препарата на основе 50,0 мг/мл mAb1. Эффект перемешивания и замораживания/размораживания

Состав	Лекарственный препарат на основе mAb1; стерильный, разлитый во флаконы рекомбинантный белок mAb1, 50,0 мг/мл, в водном забуференном растворе, pH 5,0, содержащем 30 mM ацетата, 10% (вес/об.) сахарозы и 0,2% (вес/об.) полисорбата 20					
Контейнер/ укупорочный элемент	Флакон (5 мл) BR согласно USP/Ph. Eur. из боросиликатного стекла 1 типа; хлорбутиловая пробка с покрытием FluroTec® диаметром 20 мм; обжимной колпачок с отрывной накладкой Flip-Off® диаметром 20 мм					
Анализ	T=0	Перемешивание (минуты)		Замораживание/разморозивание (циклы)		
		60	120	2	4	
Физическая форма/состояние	LEFV P	LEFVP	LEFVP	LEFVP	LEFVP	
Прозрачность	He > III	He > III	He > III	He > II	He > III	
Окраска	He > BY5	He > BY5	He > BY5	He > BY5	He > BY5	
pH	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	
Общий белок (мг/мл)	51,0	49,4	49,1	49,4	48,1	
Полисорбат 20 (%)	0,19	NR	0,19	NR	0,19	
MSE в восстанавливающих условиях (%)	Чистота	97,1	NR	97,1	NR	97,3
	LMW	0,3	NR	0,2	NR	0,1
MSE в	Чистота	96,9	NR	96,6	NR	96,8

невосстанавлива ющих условиях (%)	LMW	2,3	NR	2,8	NR	2,4
SE-UPLC (%)	Чистота MP	97,9	97,8	97,9	97,8	97,8
	LMW	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	HMW	2,1	2,2	2,2	2,2	2,2
Анализ вариантов, отличающихся зарядами, с помощью СЕХ- UPLC (%)	Область 1	39,9	40,0	40,1	39,0	39,0
	Гликиро ванные	28,0	27,9	28,1	28,0	28,1
	Область 2	54,3	54,2	54,1	55,6	55,6
	Область 3	5,8	5,8	5,8	5,5	5,4
Твердые частицы согласно методу светотени (количество/ контейнер)	≥ 10 мкм	25	NR	12	NR	34
	≥ 25 мкм	2	NR	0	NR	1

СЕХ: катионообменный; HMW: высокомолекулярный; LEFVP: жидкость, практически не содержащая видимых частиц; LMW: низкомолекулярный; MCE: капиллярный электрофорез на микрочипе; MP: главный пик; не > BY5: интенсивность окраски не превышает таковую у эталонного раствора 5; не > II: мутность не превышает таковую у эталонной суспензии II; не > III: мутность не превышает таковую у эталонной суспензии III; NR: не требуется; Ph. Eur.: Европейская фармакопея; SE: эксклюзионный; UPLC: сверхэффективная жидкостная хроматография; USP: фармакопея США

Пример 3. Разработка цикла лиофилизации

[0157] Способ лиофилизации, который разрабатывали для клинического производства, состоит из замораживания, первичной сушки и вторичной сушки. Способ лиофилизации был разработан с применением лиофилизатора FTS LyoStar™ III, исходя из температуры частичного коллапса лиофилизированной массы, составляющей $-31,2^{\circ}\text{C}$, определенной для замороженного составленного лекарственного вещества с применением сублимационного микроскопа. В ходе первичной сушки температура продукта не превышала температуру частичного коллапса лиофилизированной массы, за счет чего

обеспечивалось поддержание целостности лиофилизированной массы в ходе цикла лиофилизации. Способ вторичной сушки разрабатывали для обеспечения низкого содержания остаточной влаги в лекарственном препарате.

[0158] Цикл лиофилизации занимает примерно 63 часа для получения высушенного сублимацией лекарственного препарата на основе mAb1 во флаконах на 5 мл из стекла 1 типа, содержащих 2,5 мл составленного лекарственного вещества на основе 2 мг/мл mAb1. Цикл лиофилизации включает стадии, показанные в таблице 38 ниже.

Таблица 38. Цикл лиофилизации

Стадия лиофилизации	Скорость линейного изменения температуры полки (Продолжительность линейного изменения)	Температура полки (°C)	Время выдерживания (часы)	Давление в камере
Загрузка	NA	5-25	NA	Давление окружающей среды
Выдерживание	0,5°C/минута	5	1	Давление окружающей среды
Замораживание	0,5°C/минута (100 минут)	-45	2	Давление окружающей среды
Первичная сушка	0,5°C/минута (50 минут)	-20	40	100 мТорр
Вторичная сушка	0,2°C/минута (300 минут)	40	10	100 мТорр
Линейное изменение температуры для закупоривания	0,5°C/минута (30 минут)	25	1	100 мТорр
Заполнение газообразным	NA	25	NA	80% от атмосферного

азотом				давления (608000 мТорр)
Закупоривание	NA	25	NA	80% от атмосферного давления (608000 мТорр)

NA: не применимо

Пример 4. Разработка стабильных жидких составов на основе биспецифического антитела к MUC16 и к CD3 для внутривенного введения и стабильность составов

[0159] Проводили разработку составов для внутривенного (IV) введения, включая составы, содержащие 5 мг/мл mAb1 и 50 мг/мл mAb1, в целях идентификации pH для сведения к минимуму изменения уровня гликирования по HCDR3-Lys98 в MUC16-связывающем плече, подходящего буфера и его концентрации для поддержания pH и преодоления наблюдаемого доннановского эффекта в ходе изготовления, подходящего температурного стабилизатора в концентрации, подходящей для поддержания требуемой вязкости и тоничности, и подходящего поверхностно-активного вещества в концентрации, достаточной для разбавления в ходе IV введения, с поддержанием при этом во всех случаях стабильного жидкого состава.

[0160] Как обсуждается выше, гликирование по HC-CDR3-Lys98 в MUC16-связывающем плече оказывает непосредственное влияние на активность. Дегликирование приводит к увеличению активности, как измерено с помощью биологического анализа. Главным фактором в составе, который влияет на скорость дегликирования в mAb1, является pH. Эффект pH в отношении уровней гликирования и высокомолекулярных (HMW) соединений изучали в жидких составах путем инкубации 2 мг/мл mAb1 при 5°C в течение 36 месяцев или при 25°C в течение 2 месяцев в 10 mM гистидина, 10% (вес/об.) сахарозы и 0,05% (вес/об.) полисорбата 20 при трех разных показателях pH: 5,0, 5,5 и 6,0 (фигуры 2A - 2D). Основными путями разрушения, наблюдаемыми в таких условиях, являются образование HMW-соединений и дегликирование по HC-CDR3-Lys98, выявляемое с помощью CEX-UPLC. По мере снижения pH состава на основе mAb1 уменьшались уровни образующихся HMW-соединений и значения скорости дегликирования.

[0161] Поскольку гистидин не является хорошим буфером при pH 5,0, в качестве буфера для жидких составов на основе mAb1 был выбран ацетат натрия. Эффект pH изучали путем инкубации 50 мг/мл mAb1 в 10 mM ацетата с 5% (вес/об.) сахарозы и при пяти разных показателях pH: 4,8, 5,0, 5,2, 5,5 и 5,7 в условиях термического стресса. После инкубации при 40°C в течение 28 дней основными путями разрушения были образование

НМW-соединений и дегликирование по HC-CDR3-Lys98. Уровни образующихся НМW-соединений и значения скорости дегликирования уменьшались при более низких рН (фигуры 3А - 3В), что согласуется с наблюдениями в гистидиноном буфере. рН 5,0 был выбран в качестве целевого показателя для получения устойчивого состава, в котором нормальные вариации при изготовлении будут сохраняться в пределах диапазона, необходимого для стабилизации mAb1.

[0162] Эффект концентрации ацетата в отношении стабильности составов на основе 150 мг/мл mAb1 при рН 5,0 исследовали в жидких составах. Составы, содержащие ацетатный буфер в концентрации в диапазоне от 21 до 40 мМ, инкубировали при 45°C в течение 14 дней. Более высокая температура обеспечивает быстрое выявление разрушения белка. Анализы выявили, что основными путями разрушения было образование НМW-соединений и вариантов, отличающихся зарядами. Увеличение концентрации ацетата приводило к увеличению количества НМW-соединений, и на основе данных было выбрано значение 30 мМ. Ацетат в концентрации 30 мМ способен решить проблему с доннановским эффектом, наблюдаемым в ходе процесса изготовления. Вследствие доннановского эффекта 30 мМ ацетата необходимо для поддержания рН состава на уровне 5,0. Данная концентрация ацетата обеспечивала улучшенную стабилизацию в отношении образования НМW-соединений при данной условии стресса по сравнению с составами с более высокими концентрациями ацетата (таблица 39). Следовательно, в качестве концентрации ацетата для жидких составов на основе mAb1 для IV введения было выбрано значение 30 мМ.

Таблица 39. Стабильность 150 мг/мл mAb1 в ацетатном буфере, рН 5,0, при инкубации при 45°C в течение 14 дней

Состав	150 мг/мл mAb1 в ацетатном буфере, рН 5,0			
Объем наполнения	0,5 мл			
Контейнер/укупорочный элемент	Флаконт 2R согласно USP/Ph. Eur. из боросиликатного стекла 1 типа; пробка из бутилового эластомера с покрытием FluroTec® диаметром 13 мм; обжимной колпачок с отрывной накладкой Flip-Off® диаметром 13 мм			
Условие хранения	45°C в течение 14 дней			
Буфер	t=0 ^a	21 мМ ацетата	30 мМ ацетата	40 мМ ацетата
Окраска и внешний вид ^b	Удовлетворительный	Удовлетворительный	Удовлетворительный	Удовлетворительный
Мутность (увеличение OD при 405 нм) ^c	0,00	0,02	0,03	0,06

pH		5,0	5,0	5,1	5,1
Общий белок согласно RP-UPLC (мг/мл)		155	152	166	161
SE-UPLC (%)	HMW	1,3	18,1	20,0	21,9
	Чистота	98,4	80,1	78,7	76,8
	LMW	0,3	1,8	1,4	1,3
CEX-UPLC (%)	Область 1	47,1	22,3	23,7	24,0
	Гликированные	28,9	5,0	5,5	5,5
	Область 2	48,4	73,3	72,0	71,6
	Область 3	4,5	4,4	4,4	4,4

^a Приведенные результаты для t=0 представляют собой среднее для исходных значений во всех образцах в данном исследовании

^b Образец характеризуется удовлетворительной оценкой окраски и внешнего вида, если он выглядит от прозрачного до слегка опалесцирующего, практически не содержит видимых частиц и выглядит от бесцветного до бледно-желтого.

^c По сравнению с t=0 для каждого состава

CEX: катионообменный; DS: лекарственное вещество; HMW: высокомолекулярный; LMW: низкомолекулярный; OD: оптическая плотность; Ph. Eur.: Европейская фармакопея; SE: эксклюзионный; UPLC: сверхэффективная жидкостная хроматография; USP: фармакопея США

[0163] Эффект сахарозы в отношении стабильности mAb1 исследовали в жидких составах (150 мг/мл mAb1, 30 мМ ацетата, pH 5,0, с 0-13% [вес/об.] сахарозы) в условиях стресса, вызываемого замораживанием/размораживанием, и термического стресса. Более высокая температура обеспечивает быстрое выявление разрушения белка в условиях этих видов стресса. В условиях стресса, вызываемого замораживанием/размораживанием, основным путем разрушения было образование HMW-соединений (таблица 40). В условиях термического стресса при 45°C основными путями разрушения были образование HMW- и LMW-соединений и изменение количества вариантов, отличающихся зарядами. Составы с более высокой концентрацией сахарозы ($\geq 10\%$) обеспечивали улучшенную стабилизацию за счет снижения уровня HMW- и LMW-соединений и скорости дегликирования по HC-CDR3-Lys98 (таблица 41). Для поддержания требуемой вязкости и тоничности mAb1 в качестве температурного стабилизатора для жидких составов для IV введения была выбрана сахароза в концентрации 10% (вес/об.).

Таблица 40. Стабильность 150 мг/мл mAb1 в 30 мМ ацетатном буфере с различными концентрациями сахарозы, pH 5,0, в условиях стресса, вызываемого замораживанием/размораживанием

Состав		150 мг/мл mAb1 в 30 мМ ацетатном буфере, pH 5,0					
Объем наполнения		0,5 мл					
Контейнер/ укупорочный элемент		Флаккон 2R согласно USP/Ph. Eur. из боросиликатного стекла 1 типа; пробка из бутилкаучука с покрытием FluroTec [®] диаметром 13 мм; обжимной колпачок с отрывной накладкой Flip-Off [®] диаметром 13 мм					
Условие стресса		8 циклов замораживания/размораживания					
Температурный стабилизатор		t=0 ^a	0% (вес/об.) сахарозы	2% (вес/об.) сахарозы	5% (вес/об.) сахарозы	10% (вес/об.) сахарозы	13% (вес/об.) сахарозы
Окраска и внешний вид ^b		Удовлетворительный	Удовлетворительный	Удовлетворительный	Удовлетворительный	Удовлетворительный	Удовлетворительный
Мутность (увеличение OD при 405 нм) ^c		0,00	0,02	0,00	0,00	0,00	0,01
pH		5,0	5,1	5,1	5,1	5,1	5,0
Общий белок (мг/мл)		155	148	150	162	149	157
SE- UPLC (%)	HMW	1,3	2,4	1,5	1,4	1,4	1,4
	Чистота	98,4	97,1	98,2	98,3	98,3	98,4
	LMW	0,3	0,5	0,3	0,3	0,3	0,3
СЕХ- UPLC (%)	Область 1	47,1	46,3	46,8	46,8	47,0	46,9
	Гликированные	28,9	28,7	28,3	28,4	27,9	28,5
	Область 2	48,4	48,5	48,4	48,4	48,3	48,4
	Область 3	4,5	5,2	4,8	4,8	4,8	4,7

^a Приведенные результаты для t=0 представляют собой среднее для исходных значений во всех образцах в данном исследовании

^b Образец характеризуется удовлетворительной оценкой окраски и внешнего вида, если он выглядит от прозрачного до слегка опалесцирующего, практически не содержит видимых частиц и выглядит от бесцветного до бледно-желтого.

^c По сравнению с t=0 для каждого состава

СЕХ: катионообменный; DS: лекарственное вещество; HMW: высокомолекулярный; LMW: низкомолекулярный; OD: оптическая плотность; Ph. Eur.: Европейская фармакопея; SE: эксклюзионный; UPLC: сверхэффективная жидкостная хроматография; USP: фармакопея США

Таблица 41. Стабильность 150 мг/мл mAb1 в 30 мМ ацетатном буфере с различными концентрациями сахарозы, pH 5,0, при инкубации при 45°C в течение 14 дней

Состав		150 мг/мл mAb1 в 30 мМ ацетатном буфере, pH 5,0					
Объем наполнения		0,5 мл					
Контейнер/ укупорочный элемент		Флаконт 2R согласно USP/Ph. Eur. из боросиликатного стекла 1 типа; пробка из бутилкаучука с покрытием FluroTec [®] диаметром 13 мм; обжимной колпачок с отрывной накладкой Flip-Off [®] диаметром 13 мм					
Условие хранения		45°C в течение 14 дней					
Температурный стабилизатор		t=0 ^a	0% (вес/об.) сахарозы	2% (вес/об.) сахарозы	5% (вес/об.) сахарозы	10% (вес/об.) сахарозы	13% (вес/об.) сахарозы
Окраска и внешний вид ^b		Удовлетворительный	Удовлетворительный	Удовлетворительный	Удовлетворительный	Удовлетворительный	Удовлетворительный
Мутность (увеличение OD при 405 нм) ^c		0,00	0,03	0,03	0,03	0,01	0,02
pH		5,0	5,1	5,0	5,0	5,0	5,0
Общий белок (мг/мл)		155	166	156	157	161	165
SE- UPLC (%)	HMW	1,3	20,0	26,0	23,4	17,3	14,5
	Чистота	98,4	78,7	72,8	75,6	81,8	84,7
	LMW	0,3	1,4	1,2	1,1	0,9	0,8
СЕХ- UPLC (%)	Область 1	47,1	23,7	24,7	25,1	27,1	28,3
	Гликированные	28,9	5,5	6,1	5,1	6,7	8,1
	Область 2	48,4	72,0	70,8	70,4	68,3	67,1
	Область 3	4,5	4,4	4,5	4,5	4,6	4,5

^a Приведенные результаты для t=0 представляют собой среднее для исходных значений во всех образцах в данном исследовании

^b Образец характеризуется удовлетворительной оценкой окраски и внешнего вида, если он выглядит от прозрачного до слегка опалесцирующего, практически не содержит

видимых частиц и выглядит от бесцветного до бледно-желтого.

^c По сравнению с t=0 для каждого состава

СЕХ: катионообменный; DS: лекарственное вещество; HMW: высокомолекулярный; LMW: низкомолекулярный; OD: оптическая плотность; Ph. Eur.: Европейская фармакопея; SE: эксклюзионный; UPLC: сверхэффективная жидкостная хроматография; USP: фармакопея США

[0164] В ходе первоначальной разработки составов на основе mAb1 была продемонстрирована необходимость в поверхностно-активном веществе. При отсутствии поверхностно-активного вещества наблюдалось увеличение количества HMW-соединений mAb1 в случае перемешивания состава путем встряхивания вихревым способом. Добавление поверхностно-активного вещества обеспечивало стабилизацию mAb1 в условиях стресса, вызываемого перемешиванием. При первоначальной разработке в качестве поверхностно-активного вещества был выбран полисорбат 20 ввиду улучшенной термической стабильности по сравнению с полисорбатом 80. В случае состава на основе mAb1, предназначенного для IV введения, также в составе требуется полисорбат 20 для стабилизации mAb1 при разбавлении в 0,9% хлориде натрия для IV введения.

[0165] Эффект полисорбата 20 в отношении стабильности mAb1 исследовали в жидких составах (50 мг/мл mAb1, 30 mM ацетата, 10% [вес/об.] сахарозы, pH 5,0, с 0-0,25% [вес/об.] полисорбата 20) в условиях стресса, вызываемого перемешиванием, и термического стресса.

[0166] В условиях стресса, вызываемого перемешиванием, mAb1 было стабильным во всех тестируемых жидких составах (таблица 42). В условиях термического стресса при 45°C основными путями разрушения было образование HMW-соединений и вариантов, отличающихся зарядами (таблица 43). Увеличение концентрации полисорбата 20 не оказывало значимого влияния на образование вариантов, отличающихся зарядами, однако с увеличением концентрации полисорбата 20 наблюдалось некоторое увеличение уровней образующихся HMW-соединений. Поскольку такие составы на основе mAb1 предназначены для IV доставки путем разбавления в 0,9% хлориде натрия, составы будут содержать 0,2% (вес/об.) полисорбата 20. 0,2% полисорбата 20 обеспечивают стабилизацию mAb1 и обеспечивают достаточную стабилизацию mAb1 при разбавлении для IV введения.

Таблица 42. Стабильность 50 мг/мл mAb1 в 30 mM ацетатном буфере, 10% (вес/об.) сахарозы, pH 5,0, с полисорбатом 20 при перемешивании путем встряхивания вихревым способом

Состав	50 мг/мл mAb1 в 30 mM ацетатном буфере, 10% (вес/об.) сахарозы, pH 5,0
Объем наполнения	0,5 мл
Контейнер/укупорочный элемент	Флакон 2R согласно USP/Ph. Eur. из боросиликатного стекла 1 типа; пробка из бутилкаучука с покрытием

		FlugoTec [®] диаметром 13 мм; обжимной колпачок с отрывной накладкой Flip-Off [®] диаметром 13 мм					
Условие стресса		Встряхивание вихревым способом при 1000 об./мин в течение 60 мин					
Поверхностно-активное вещество		t=0 ^a	0% (вес/об.) полисорбат 20	0,05% (вес/об.) полисорбат 20	0,10% (вес/об.) полисорбат 20	0,20% (вес/об.) полисорбат 20	0,25% (вес/об.) полисорбат 20
Окраска и внешний вид ^b		Удовлетворительный	Удовлетворительный	Удовлетворительный	Удовлетворительный	Удовлетворительный	Удовлетворительный
Мутность (увеличение OD при 405 нм) ^c		0,00	0,00	0,01	0,01	0,00	0,00
pH		5,1	5,0	5,0	5,1	5,0	5,1
Общий белок (мг/мл)		51	48	49	49	49	49
SE-UPLC (%)	HMW	1,7	1,7	1,7	1,7	1,7	1,7
	Чистота	98,0	98,0	98,0	98,0	98,0	98,0
	LMW	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3
CEX-UPLC (%)	Область 1	43,4	43,3	43,3	43,5	43,3	43,6
	Гликированные	30,9	31,0	31,0	30,9	30,9	31,3
	Область 2	51,8	51,9	51,9	51,6	51,9	51,8
	Область 3	4,8	4,8	4,8	4,9	4,8	4,6

^a Приведенные результаты для t=0 представляют собой среднее для исходных значений во всех образцах в данном исследовании

^b Образец характеризуется удовлетворительной оценкой окраски и внешнего вида, если он выглядит от прозрачного до слегка опалесцирующего, практически не содержит видимых частиц и выглядит от бесцветного до бледно-желтого.

^c По сравнению с t=0 для каждого состава

CEX: катионообменный; DS: лекарственное вещество; HMW: высокомолекулярный; LMW: низкомолекулярный; OD: оптическая плотность; Ph. Eur.: Европейская фармакопея; SE: эксклюзионный; UPLC: сверхэффективная жидкостная хроматография; USP: фармакопея США

Таблица 43. Стабильность 50 мг/мл mAb1 в 30 мМ ацетатном буфере, 10% (вес/об.) сахарозы, pH 5,0, с полисорбатом 20 при инкубации при 45°C в течение 14 дней

Состав	50 мг/мл mAb1 в 30 мМ ацетатном буфере, 10% (вес/об.) сахарозы, pH 5,0
--------	--

Объем наполнения	0,5 мл						
Контейнер/ укупорочный элемент	Флаконт 2R согласно USP/Ph. Eur. из боросиликатного стекла 1 типа; пробка из бутилкаучука с покрытием FluroTec® диаметром 13 мм; обжимной колпачок с отрывной накладкой Flip-Off® диаметром 13 мм						
Условие хранения	45°С в течение 14 дней						
Поверхностно- активное вещество	t=0 ^a	0% (вес/об.) полисорба та 20	0,05% (вес/об.) полисорба та 20	0,10% (вес/об.) полисорба та 20	0,20% (вес/об.) полисорба та 20	0,25% (вес/об.) полисорба та 20	
Окраска и внешний вид ^b	Удовлетво рительный	Удовлетво рительный	Удовлетво рительный	Удовлетво рительный	Удовлетво рительный	Удовлетво рительный	
Мутность (увеличение OD при 405 нм) ^c	0,00	0,01	0,01	0,02	0,01	0,01	
pH	5,1	5,1	5,1	5,1	5,1	5,1	
Общий белок (мг/мл)	51	50	50	51	51	50	
SE- UPLC (%)	HMW	1,7	4,2	5,1	5,1	5,8	6,0
	Чистот а	98,0	95,0	94,0	94,0	93,3	93,1
	LMW	0,3	0,9	0,9	0,9	0,9	0,9
СЕХ- UPLC (%)	Област ь 1	43,4	17,7	17,4	17,4	16,6	16,8
	Гликир ованны е	30,9	8,0	7,8	7,9	7,3	7,4
	Област ь 2	51,8	75,1	74,5	74,7	74,8	74,5
	Област ь 3	4,8	7,2	8,1	7,9	8,6	8,7

^a Приведенные результаты для t=0 представляют собой среднее для исходных значений во всех образцах в данном исследовании

^b Образец характеризуется удовлетворительной оценкой окраски и внешнего вида, если он выглядит от прозрачного до слегка опалесцирующего, практически не содержит видимых частиц и выглядит от бесцветного до бледно-желтого.

^c По сравнению с $t=0$ для каждого состава

СЕХ: катионообменный; DS: лекарственное вещество; HMW: высокомолекулярный; LMW: низкомолекулярный; OD: оптическая плотность; Ph. Eur.: Европейская фармакопея; SE: эксклюзионный; UPLC: сверхэффективная жидкостная хроматография; USP: фармакопея США

[0167] Для подтверждения стабильности жидких составов проводили исследования стабильности при длительном хранении, в условиях ускоренного старения и стресса. Результаты указывали на то, что эти составы обеспечивают надлежащую стабильность.

Пример 5. Разработка стабильных жидких составов на основе биспецифического антитела к MUC16 и к CD3 для подкожного введения и стабильность составов

[0168] Проводили разработку составов для подкожного (SC) введения, включая составы, содержащие 150 мг/мл mAb1, в целях идентификации вспомогательных веществ и их концентраций, обеспечивающих максимальные результаты в отношении SC введения и стабильности.

[0169] Параметры буфера, pH и поверхностно-активного вещества идентифицировали для состава для IV введения (пример 4), и эти параметры применяли для состава для подкожного введения. В ходе разработки состава для IV введения также определяли характеристики концентрации поверхностно-активного вещества (полисорбата 20), и данные использовали для выбора концентрации поверхностно-активного вещества, подходящей для состава для подкожного введения. В ходе разработки состава для mAb1 для подкожного введения буфер, pH, а также тип и концентрацию поверхностно-активного вещества поддерживали постоянными на следующих уровнях:

pH: 5,0. Для сведения к минимуму скорости дегликирования и образования HMW-соединений

Буфер: 30 mM ацетата натрия. Для поддержания pH на уровне 5,0 даже при доннановском эффекте, наблюдаемом в ходе обработки

Поверхностно-активное вещество: 0,05% (вес/об.) полисорбата 20. Для обеспечения баланса стабильности в условиях стресса, вызываемого перемешиванием, со сведением при этом к минимуму влияния на термическую стабильность

[0170] Другие факторы, которые оценивали в составе на основе mAb1 для SC введения, являются следующими.

Концентрация mAb1: оценивается в диапазоне 50-150 мг/мл

Концентрация mAb1 для достижения требуемой клинической дозы с поддержанием при этом стабильности в течение по меньшей мере 24 месяцев в случае хранения при 2-8°C и с поддержанием вязкости на уровне менее 20 сП при 20°C при

целевой осмоляльности 290-400 мОсм/кг

Концентрация сахарозы: оценивается в диапазоне 2-10%

Концентрация сахарозы для обеспечения достаточной термической стабильности со сведением при этом к минимуму влияния на осмоляльность и вязкость

Для стабилизации mAb1 в условиях стресса, вызываемого замораживанием/размораживанием, необходимо по меньшей мере 2% (вес/об.) сахарозы

Концентрация аргинина: оценивается в диапазоне 0-100 мМ

Оценка способности аргинина снижать вязкость и оценка влияния на стабильность и осмоляльность

[0171] Составы, оцениваемые для SC введения, показаны в таблице 44 ниже.

Таблица 44. Составы, тестируемые для SC введения mAb1

Номер состава	[Белок] (мг/мл)	[Сахароза] (% вес/об.)	[Аргинин] (мМ)	Ацетат (мМ)	Полисорбат 20 (%)
1	100	2	37,5	30	0,05
2	100	10	0	30	0,05
3	50	2	100	30	0,05
4	150	10	100	30	0,05
5	50	2	0	30	0,05
6	50	10	100	30	0,05
7	150	10	50	30	0,05
8	50	6	50	30	0,05
9	100	6	100	30	0,05
10	150	4,44	0	30	0,05
11	100	6	50	30	0,05
12	150	2	100	30	0,05

[0172] Анализ вязкости - на фигуре 4 показана зависимость вязкости mAb1 в виде функции от концентрации mAb1, концентрации сахарозы и концентрации аргинина. В ходе данного исследования были сделаны следующие наблюдения: (i) основным фактором, вносящим вклад в вязкость, является концентрация mAb1. В пределах диапазона 50-150 мг/мл вязкость увеличивается экспоненциально от приблизительно 2 сП до приблизительно 11 сП (при 20°C); (ii) имеет место незначительная зависимость вязкости от сахарозы. При концентрации mAb1 150 мг/мл, если количество сахарозы изменяется от 2 до 10% (вес/об.), вязкость увеличивается от приблизительно 11 сП до 13

сП (при 20°C); и (iii) эффект концентрации аргинина в отношении вязкости является аналогичным эффекту сахарозы по величине, но увеличение количества аргинина приводит к уменьшению вязкости от приблизительно 11 сП до 9 сП (при 20°C).

[0173] Анализ осмоляльности - на фигуре 5 показана зависимость осмоляльности mAb1 в виде функции от концентрации mAb1, концентрации сахарозы и концентрации аргинина. В ходе данного исследования были сделаны следующие наблюдения: (i) в пределах диапазона 50-150 мг/мл концентрация mAb1 вносит пренебрежимо малый вклад в осмоляльность; (ii) основным фактором, вносящим вклад в осмоляльность, является сахароза. При концентрации mAb1 150 мг/мл, если количество сахарозы изменяется от 2 до 10% (вес/об.), осмоляльность увеличивается от приблизительно 90 мОсм/кг до приблизительно 410 мОсм/кг; и (iii) увеличение концентрации аргинина также приводит к увеличению осмоляльности. При 150 мг/мл mAb1 увеличение количества аргинина от 0 до 100 мМ приводит к увеличению осмоляльности от приблизительно 90 мОсм/кг до приблизительно 300 мОсм/кг.

[0174] Анализ стабильности - на фигуре 6 показана стабильность mAb1 в виде функции от концентрации mAb1, концентрации сахарозы и концентрации аргинина. В данном исследовании оценивали образование НМВ-соединений при 25°C/RH 60% и 40°C/RH 75%. Кроме того, в этих же условиях оценивали потерю кислых соединений и потерю гликированных соединений. Были сделаны следующие наблюдения: (i) увеличение концентрации сахарозы приводило к уменьшению значений скорости образования НМВ как при 25°C/RH 60%, так и при 40°C/RH 75%; (ii) увеличение концентрации аргинина приводило к уменьшению скорости образования НМВ при 25°C/RH 60%, а при 40°C/RH 75% - к увеличению скорости образования НМВ; (iii) увеличение концентрации сахарозы приводило к снижению скорости образования кислых соединений и гликированных соединений при 25°C/RH 60% (количество кислых и гликированных соединений уменьшается с течением времени, поэтому менее отрицательное значение скорости означает меньшее разрушение с течением времени); и (iv) увеличение концентрации аргинина приводило к снижению скорости образования гликированных соединений при 25°C/RH 60%.

[0175] На основании предыдущих исследований по разработке (*например*, в примерах 1 и 2) и данного исследования выбирали два лидерных состава для дополнительной оценки стабильности, вязкости и осмоляльности. Два лидерных состава и соответствующие значения вязкости и осмоляльности показаны в таблице 45 ниже. Оба состава удовлетворяли целевым значениям вязкости и осмоляльности при концентрации mAb1 150 мг/мл. Оба состава показали сопоставимую стабильность в случае инкубации в течение 3 месяцев при 40°C/RH 75%, 6 месяцев при 25°C/RH 60% или 6 месяцев при 2-8°C (фигуры 7А и 7В). Оба состава показали сопоставимые изменения количества НМВ-соединений и гликированных соединений.

Таблица 45. Иллюстративные составы на основе mAb1 для SC введения

СОСТАВЫ	ВЯЗКОСТЬ ПРИ 20°C (СП)	ОСМОЛЯЛЬНОСТЬ (ММОЛЬ/КГ)
150 мг/мл mAb1, 30 мМ ацетата, 8% (вес/об.) сахарозы, 0,05% (вес/об.) PS20, pH 5,0	12,6	333
150 мг/мл mAb1, 30 мМ ацетата, 7% (вес/об.) сахарозы, 50 мМ аргинина, 0,05% (вес/об.) PS20, pH 5,0	11,6	389

[0176] Исходя из этих данных, оба состава являются сопоставимыми. Аргинин не был выбран в качестве вспомогательного вещества в составе для подкожного введения, поскольку он обеспечивает небольшое улучшение стабильности или вязкости, но при этом приводит к увеличению осмоляльности. Таким образом, предпочтительный иллюстративный состав для подкожного введения представляет собой: 150 мг/мл mAb1; 30 мМ ацетата, pH 5,0; 8% вес/об. сахарозы и 0,05% вес/об. полисорбата 20.

[0177] Также были начаты исследования стабильности для оценивания стабильности составов на основе mAb1 при хранении, в условиях стресса и в условиях ускоренного старения. Исследования стабильности включали состав для подкожного (SC) введения (150 мг/мл mAb1 в 30 мМ ацетата натрия, 8% (вес/об.) сахарозы, 0,05% (вес/об.) полисорбата 20, pH 5,0), хранящийся во флаконах Schott 6R из боросиликатного стекла. Жидкие составы инкубировали в условиях хранения, стресса и ускоренного старения. Условия стресса и ускоренного старения выбирали для имитации условий за рамками тех, которым будет подвергаться лекарственный препарат в ходе изготовления и обращения, и выяснения путей разрушения mAb1. Также оценивали стабильность в условиях дополнительных видов стресса, включающих перемешивание и замораживание/размораживание.

[0178] Антитело (mAb1) в оцениваемых составах было физически и химически стабильным в случае хранения при 5°C в течение по меньшей мере 6 месяцев (таблица 46). Существенных изменений в стабильности не было выявлено ни по одному из контролируемых свойств при 5°C во флаконах 6R. Результаты анализа составов на основе mAb1 после инкубации в условиях ускоренного старения и стресса представлены в таблице 47. После инкубации в течение 6 месяцев при 25°C/RH 60% наблюдалось увеличение количества НМВ-соединений на 1,7% согласно SE-UPLC. Для вариантов, отличающихся зарядами, наблюдались разные тенденции согласно CEX-UPLC и iCIEF ввиду разной чувствительности каждого анализа. Наблюдалось увеличение области 1 с сопутствующим уменьшением области 2 согласно iCIEF. Наблюдалось уменьшение области 1 с сопутствующим увеличением области 2 согласно CEX-UPLC в случае

хранения при 25°C/RH 60% в течение вплоть до 6 месяцев ввиду дегликирования по HC-CDR3-Lys98 в плече для MUC16 (дегликирование также происходит в условиях термического стресса). Результаты, полученные в условиях ускоренного старения, указывали на то, что жидкие составы являются стабильными в условиях термического стресса во флаконах 6R.

[0179] После инкубации в течение 3 месяцев при 40°C/RH 75% наблюдалось увеличение количества HMW- и LMW-соединений на 15,9% и 1,1% соответственно согласно SE-UPLC. Для вариантов, отличающихся зарядами, наблюдались разные тенденции согласно CEX-UPLC и iCIEF ввиду разной чувствительности каждого анализа. Наблюдалось увеличение области 1 с сопутствующими уменьшениями областей 2 и 3 согласно iCIEF после инкубации при 40°C/RH 75% в течение вплоть до 3 месяцев, что, вероятно, было обусловлено дезамидированием по аспарагину или глутамину. После инкубации в течение вплоть до 2 месяцев при 40°C/RH 75% имеет место уменьшение области 1 с сопутствующим увеличением области 2, наблюдаемое согласно CEX-UPLC, ввиду дегликирования по HC-CDR3-Lys98 в плече для MUC16 (дегликирование также происходит в условиях ускоренного старения). За этим следует явное увеличение области 1 с сопутствующим уменьшением области 2, наблюдаемое согласно CEX-UPLC в момент времени 3 месяца, что, вероятно, обусловлено конкурирующей реакцией дезамидирования. Также имеет место увеличение области 3 на 16,3% после 3 месяцев при 40°C/RH 75%, что наблюдается согласно CEX-UPLC. Было определено, что данное увеличение составляют олигомерные соединения mAb1, включающие главным образом тетрамерные, пентамерные, гексамерные и гептамерные соединения. Результаты инкубации составов на основе mAb1 при 40°C/RH 75% указывали на то, что образование HMW- и LMW-соединений и изменение распределения вариантов, отличающихся зарядами, являются основными путями разрушения лекарственного препарата на основе mAb1.

[0180] Составы на основе mAb1 были физически и химически стабильными в случае встряхивания вихревым способом в течение 60 либо 120 минут (таблица 48). Существенных изменений в физической или химической стабильности не было выявлено ни по одному из контролируемых свойств. Составы на основе mAb1 также были физически и химически стабильными в случае воздействия 4 циклов замораживания и размораживания (таблица 48). Существенных изменений в физической или химической стабильности не было выявлено ни по одному из контролируемых свойств.

Таблица 46. Стабильность лекарственного препарата на основе mAb1 при хранении при 5°C

Состав	150,0 мг/мл REGN4018, 30 мМ ацетата, 8% (вес/об.) сахарозы и 0,05% (вес/об.) полисорбата 20
Контейнер для хранения	Флакон ISO 6R из боросиликатного стекла 1 типа согласно USP/EP; пробка для жидкостей West S10-F451 4432/50 B2-40 диаметром 20 мм;

	алюминиевый обжимной колпачок с отрывной накладкой West диаметром 20 мм				
Условие хранения	5°C, вертикальное положение				
Анализ	Критерии приемлемости качества ^a	Длительность хранения (месяцы)			
		T=0	1	3	6
Физическая форма/ состояние	Жидкость, практически не содержащая видимых частиц	LEFVP	LEFVP	LEFVP	LEFVP
Прозрачность	Мутность не превышает таковую у эталонной суспензии IV	He > II	He > II	He > II	He > II
Окраска	Интенсивность окраски не превышает таковую у эталонного раствора BY2	He > BY4	He > BY4	He > BY4	He > BY4
pH	От 4,7 до 5,3	5,0	5,0	5,0	5,0
Общий белок (SoloVPE)	От 135 до 165 мг/мл	144,8	145,3	150,7	146,2
Активность согласно биологическому анализу	50-150%	103	NR	NR	146
Чистота согласно SE-UPLC	а. Чистота \geq 90% общей площади пиков	97,8	97,7	97,5	97,4
	б. \leq 5% LMW-соединений	0,0	0,0	0,0	0,0
	с. \leq 7% HMW-соединений	2,2	2,3	2,5	2,6

Анализ вариантов, отличающихся зарядами, с помощью iCIEF	Приведенный % области 1	39,9	NR	NR	40,2
	Приведенный % области 2	41,9	NR	NR	42,7
	Приведенный % области 3	18,2	NR	NR	17,1
Анализ вариантов, отличающихся зарядами, с помощью CEХ	a. 15-60% области 1	45,7	45,5	44,3	43,5
	b. гликированных соединений (приведенный %)	32,4	32,6	31,6	31,2
	c. $\geq 35\%$ области 2	48,3	48,8	49,9	50,9
	d. $\leq 25\%$ области 3	6,0	5,8	5,8	5,6
Твердые частицы (метод светотени)	≥ 10 мкм: ≤ 6000 (частицы/контейнер)	13	NR	NR	22
	≥ 25 мкм: ≤ 600 (частицы/контейнер)	0	NR	NR	4
Твердые частицы (MFI™)	Приведенное значение количества частиц/мл: $2 \text{ мкм} \leq x < 10 \text{ мкм}$ (частицы/мл)	3641	NR	NR	1829
	≥ 10 мкм (частицы/мл)	240	NR	NR	86
	≥ 25 мкм (частицы/мл)	34	NR	NR	23
Содержание полисорбата 20	$0,05 \pm 0,025\%$ PS20	0,05	NR	NR	0,06

^a. Критерии взяты из целевого показателя качества платформы FDG FBP-015-FD со

	раствора ВУ2									
рН	От 4,7 до 5,3	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0
Общий белок (SoloVPE)	От 135 до 165 мг/мл	144,8	149,0	145,3	153,9	148,4	145,2	148,9	144,8	147,9
Активность согласно биологическому анализу	50-150%	103	NR	NR	NR	148	NR	NR	NR	132
Чистота согласно SE-UPLC	a. Чистота \geq 90% общей площади пиков	97,8	97,4	97,2	96,6	96,0	95,7	94,8	92,2	80,9
	b. \leq 5% LMW-соединений	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1	0,3	0,0	0,1	1,1
	c. \leq 7% HMW-соединений	2,2	2,6	2,8	3,3	3,9	4,0	5,2	7,7	18,1
Анализ вариантов, отличающихся зарядами, с помощью iCIEF	Приведенный % области 1	39,9	NR	NR	NR	49,0	NR	NR	NR	72,0
	Приведенный % области 2	41,9	NR	NR	NR	33,5	NR	NR	NR	18,0
	Приведенный % области 3	18,2	NR	NR	NR	17,5	NR	NR	NR	10,0
Анализ вариантов, отличающихся зарядами, с помощью CEХ	a. 15-60% области 1	45,7	41,3	38,8	29,2	23,1	30,8	23,4	18,3	25,1
	b. % гликированных соединений (приведенный	32,4	29,5	27,5	18,6	13,2	20,3	13,5	7,5	12,2

	(%)									
	c. $\geq 35\%$ области 2	48,3	53,0	56,2	65,6	71,3	63,7	69,5	72,4	55,6
	d. $\leq 25\%$ области 3	6,0	5,6	5,0	5,2	5,6	5,5	7,1	9,3	19,3
Твердые частицы (метод светотени)	≥ 10 мкм: ≤ 6000 частиц/контейнер	13	NR	NR	NR	25	NR	NR	NR	48
	≥ 25 мкм: ≤ 600 частиц/контейнер	0	NR	NR	NR	2	NR	NR	NR	5
Твердые частицы (MFI™)	$2 \text{ мкм} \leq x < 10$ мкм (частицы/мл)	3641	NR	NR	NR	1238	NR	NR	NR	653
	≥ 10 мкм (частицы/мл)	240	NR	NR	NR	29	NR	NR	NR	33
	≥ 25 мкм (частицы/мл)	34	NR	NR	NR	2	NR	NR	NR	2
Содержание полисорбата 20	Приведенный % PS20	0,05	NR	NR	NR	0,06	NR	NR	NR	0,05

NR указывает на то, что тесты не проводили в установленный момент времени.

CEX: катионообменный; DS: лекарственное вещество; FDG: группа разработки составов; HMW: высокомолекулярный; iCIEF: капиллярное изоэлектрическое фокусирование под визуализационным контролем; LMW: низкомолекулярный; MFI: визуализация микропотока™; MP: главный пик; SE-UPLC: эксклюзионная сверхвысокоэффективная жидкостная хроматография; NR: не требуется

Таблица 48. Стабильность лекарственного препарата на основе mAb1 - эффект перемешивания и замораживания/размораживания

Состав	150,0 мг/мл REGN4018, 30 мМ ацетата, 8% (вес/об.) сахарозы и 0,05% (вес/об.) полисорбата 20
Контейнер для хранения	Флакон ISO 6R из боросиликатного стекла 1 типа

		согласно USP/EP; пробка для жидкостей West S10-F451 4432/50 В2-40 диаметром 20 мм; алюминиевый обжимной колпачок с отрывной накладкой West диаметром 20 мм				
Условие хранения		Без стресса	Перемешивание (минуты)		Замораживание/размораживание (циклы)	
Анализ		T=0	60	120	2	4
Физическая форма/состояние	Жидкость, практически не содержащая видимых частиц	LEFVP	LEFVP	LEFVP	LEFVP	LEFVP
Прозрачность	Мутность не превышает такую у эталонной суспензии IV	He > II	He > II	He > II	He > II	He > II
Окраска	Интенсивность окраски не превышает такую у эталонного раствора BY2	He > BY4	He > BY4	He > BY4	He > BY4	He > BY4
pH	От 4,7 до 5,3	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0
Общий белок (SoloVPE)	От 135 до 165 мг/мл	144,8	144,4	144,4	145,7	147,9
Активность согласно биологическому анализу	50-150%	103	NR	138	NR	97
Чистота согласно SE-UPLC	а. Чистота \geq 90% общей площади пиков	97,8	97,8	97,8	97,8	97,8

	b. $\leq 5\%$ LMW-соединений	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1
	c. $\leq 7\%$ HMW-соединений	2,2	2,2	2,2	2,2	2,1
Анализ вариантов, отличающихся зарядами, с помощью iCIEF	Приведенный % области 1	39,9	NR	40,3	NR	39,5
	Приведенный % области 2	41,9	NR	42,3	NR	42,5
	Приведенный % области 3	18,2	NR	17,5	NR	18,0
Анализ вариантов, отличающихся зарядами, с помощью CEХ	a. 15-60% области 1	45,7	45,7	45,8	45,2	45,5
	b. % гликированных соединений (приведенный %)	32,4	32,4	32,5	32,0	32,3
	c. $\geq 35\%$ области 2	48,3	48,3	48,3	48,8	48,4
	d. $\leq 25\%$ области 3	6,0	6,0	6,0	6,1	6,0
Твердые частицы (метод светотени)	≥ 10 мкм: ≤ 6000 частиц/ контейнер	13	NR	4	NR	40
	≥ 25 мкм: ≤ 600 частиц/ контейнер	0	NR	0	NR	3
Твердые частицы (MFI™)	$2 \text{ мкм} \leq x < 10$ мкм (частицы/мл)	3641	NR	1470	NR	271
	≥ 10 мкм (частицы/мл)	240	NR	73	NR	13
	≥ 25 мкм (частицы/мл)	34	NR	0	NR	2

Содержание полисорбата 20	Приведенный % PS20	0,05	NR	0,05	NR	0,05
---------------------------	--------------------	------	----	------	----	------

NR указывает на то, что тесты не проводили в установленный момент времени.

DS: лекарственное вещество; FDG: группа разработки составов; HMW: высокомолекулярный; LMW: низкомолекулярный; MFI: визуализация микропотока™; MP: главный пик; SE-UPLC: эксклюзионная сверхвысокоэффективная жидкостная хроматография; NR: не требуется

[0181] Были начаты дополнительные исследования стабильности для определения стабильности при длительном хранении, в условиях ускоренного старения (при более высоких температурах, чем в условиях хранения) и стабильности в условиях стресса (40°C/RH 75%, перемешивание, замораживание и размораживание) составов на основе mAb1 при 150 мг/мл антитела. Составы на основе mAb1 с 150 мг/мл антитела разливали во флаконы на 5 мл из поликарбоната для условий перемешивания, замораживания/размораживания, хранения в замороженном состоянии, а также ускоренного старения и хранения в условиях стресса. Флаконы из поликарбоната являются иллюстративными контейнерами для хранения, используемыми для составов на основе mAb1 (составленного лекарственного вещества), которые изготавливают на производственном объекте, соответствующем GMP. Тестируемые составы содержали 150 мг/мл очищенного mAb1 в водном забуференном растворе, содержащем 30 мМ ацетата натрия, pH 5,0, 8% (вес/об.) сахарозы и 0,05% (вес/об.) PS20.

[0182] Существенных изменений в физической или химической стабильности составов на основе mAb1 в случае хранения при -80°C и -30°C в течение вплоть до 6 месяцев выявлено не было (таблица 49 и таблица 50). Эти результаты указывают на то, что mAb1 (150 мг/мл) является стабильным в течение по меньшей мере 6 месяцев в случае хранения в замороженном состоянии в условиях хранения.

[0183] Результаты исследований по изучению стабильности в условиях ускоренного старения представлены в таблицах 51А и 51В. Не наблюдались существенные изменения по контролируемым свойствам после инкубации составов на основе mAb1 (150 мг/мл антитела) при -20°C в течение вплоть до 6 месяцев. Наблюдалось увеличение концентрации белка согласно данным SoloVPE после инкубации при 25°C/RH 60% в течение 6 месяцев, что, вероятно, было обусловлено испарением образца. Наблюдалось увеличение количества HMW-соединений согласно SE-UPLC после инкубации при 5°C и 25°C/RH 60% в течение 6 месяцев. Наблюдалось уменьшение области 1 (кислые соединения) с сопутствующим увеличением области 2 (главный пик) согласно CEX-UPLC после инкубации при 25°C/RH 60% в течение 6 месяцев ввиду дегликирования по HC-CDR3-Lys98 в плече для MUC16. Наблюдалось увеличение области 1 (кислые соединения) с сопутствующим уменьшением области 2 (главный пик) согласно iCIEF после инкубации при 25°C/RH 60% в течение 6 месяцев, что, вероятно,

было обусловлено дезамидированием. Эти результаты указывают на то, что составы на основе mAb1 (150 мг/мл) способны выдерживать инкубацию при -20°C в течение по меньшей мере 6 месяцев и при 5°C в течение 3 месяцев без нарушения физической либо химической стабильности белка. Составы на основе mAb1 также способны выдерживать кратковременные воздействия температуры 25°C/RH 60%.

[0184] Результаты исследований по изучению стабильности в условиях стресса представлены в таблицах 51A и 51B, а также в таблице 52. Составы на основе mAb1 (150 мг/мл) были физически и химически стабильными в случае перемешивания (встряхивания вихревым способом) в течение вплоть до 120 минут или воздействия вплоть до четырех циклов замораживания и размораживания. Наблюдалось увеличение концентрации белка согласно SoloVPE после инкубации при 40°C/RH 75% в течение вплоть до 3 месяцев, что, вероятно, было обусловлено испарением образца. Наблюдалось увеличение количества HMW- и LMW-соединений согласно SE-UPLC после инкубации при 40°C/RH 75% в течение вплоть до 3 месяцев. Наблюдалось уменьшение области 1 с сопутствующим увеличением области 2 согласно CEX-UPLC после инкубации при 40°C/RH 75% ввиду дегликирования по HC-CDR3-Lys98 в плече для MUC16. После 2 месяцев инкубации при 40°C/RH 75% наблюдается уменьшение области 1 и сопутствующее увеличение области 2. Однако после момента времени три месяца тенденция меняется на противоположную, и наблюдается явное увеличение области 1 и области 3 с сопутствующим уменьшением области 2. Увеличение области 1, вероятно, обусловлено конкурирующим дезамидированием по аспарагину или глутамину, тогда как увеличение области 3, как было определено, составляют олигомерные соединения mAb1, включающие главным образом тетрамерные, пентамерные, гексамерные и гептамерные соединения. Результаты, полученные в условиях ускоренного старения и в условиях стресса, указывали на то, что HMW, LMW и варианты, отличающиеся зарядами, являются основными путями разрушения mAb1 (150 мг/мл).

Таблица 49. Стабильность составленного лекарственного вещества на основе mAb1 при -80°C

Состав	150 мг/мл REGN4018, 30 мМ ацетата, pH 5,0, 8% (вес/об.) сахарозы, 0,05% полисорбата 20	
Объем наполнения	2,5 мл	
Контейнер для хранения	Флакон Cellox на 5 мл из поликарбоната с укупорочным элементом с подкладкой из HDPE	
Условие хранения	-80°C, вертикальная ориентация флакона	
Анализ	Критерии	Длительность хранения (месяцы)

	приемлемости качества ^a	T=0	1	3	6
Физическая форма/ состояние	Жидкость, практически не содержащая видимых частиц	LEFVP	LEFVP	LEFVP	LEFVP
Прозрачность	Мутность не превышает таковую у эталонной суспензии IV	He > II	He > II	He > II	He > II
Окраска	Интенсивность окраски не превышает таковую у эталонного раствора BY2	He > BY4	He > BY4	He > BY4	He > BY4
pH	От 4,8 до 5,2	5,0	5,0	5,0	5,0
Общий белок	От 45 до 55 мг/мл	146,3	148,9	153,2	148,7
Чистота согласно SE- UPLC	а. Чистота $\geq 90\%$ общей площади пиков	97,8	97,9	97,8	97,9
	б. $\leq 5\%$ LMW- соединений	0,0	0,0	0,0	0,0
	с. $\leq 7\%$ HMW- соединений	2,2	2,1	2,2	2,1
Анализ вариантов, отличающихся зарядами, с помощью iCIEF	Приведенный % области 1	39,4			41,7
	Приведенный % области 2	42,5			41,6
	Приведенный % области 3	18,1			16,7
Анализ вариантов, отличающихся зарядами, с	а. 15-60% области 1	45,8	45,9	45,1	45,5
	б. % гликированных соединений (приведенный %)	32,5	32,6	32,0	32,2

помощью СЕХ	c. $\geq 35\%$ области 2	48,2	48,5	48,6	48,6
	d. $\leq 25\%$ области 3	6,0	5,6	6,3	5,9
Твердые частицы (MFI™)	$2 \text{ мкм} \leq x < 10 \text{ мкм}$ (частицы/мл)	9537			250
	$\geq 10 \text{ мкм}$ (частицы/мл)	622			4
	$\geq 25 \text{ мкм}$ (частицы/мл)	76			0
Содержание полисорбата 20	Приведенный % PS20	0,05			

а. Критерии взяты из целевого показателя качества платформы FDG FBP-015-FD со специфичной для программы корректировкой. Результаты анализов без приведенного процентного значения целевого показателя качества представлены исключительно в информационных целях. Выделение ячеек серым цветом указывает на то, что тесты не проводили в установленный момент времени.

СЕХ: катионообменный; DS: лекарственное вещество; FDG: группа разработки составов; HMW: высокомолекулярный; iCIEF: капиллярное изоэлектрическое фокусирование под визуализационным контролем; LEFVP: жидкость, практически не содержащая видимых частиц; LMW: низкомолекулярный; MFI: визуализация микропотока™; MP: главный пик; SE-UPLC: эксклюзионная сверхвысокоэффективная жидкостная хроматография

Таблица 50. Стабильность составленного лекарственного вещества на основе mAb1 при -30°C

Состав	150 мг/мл REGN4018, 30 мМ ацетата, pH 5,0, 8% (вес/об.) сахарозы, 0,05% полисорбата 20				
Объем наполнения	2,5 мл				
Контейнер для хранения	Флакон Cellon на 5 мл из поликарбоната с укупорочным элементом с подкладкой из HDPE				
Условие хранения	-30°C , вертикальная ориентация флакона				
Анализ	Критерии приемлемости качества ^a	Длительность хранения (месяцы)			
		T=0	1	3	6
Физическая	Жидкость,	LEFVP	LEFVP	LEFVP	LEFVP

форма/ состояние	практически не содержащая видимых частиц				
Прозрачность	Мутность не превышает таковую у эталонной суспензии IV	He > II	He > II	He > II	He > II
Окраска	Интенсивность окраски не превышает таковую у эталонного раствора BY2	He > BY4	He > BY4	He > BY4	He > BY4
pH	От 4,8 до 5,2	5,0	5,0	5,0	5,0
Общий белок	От 45 до 55 мг/мл	146,3	146,1	148,3	149,2
Чистота согласно SE- UPLC	a. Чистота $\geq 90\%$ общей площади пиков	97,8	97,9	97,8	97,9
	b. $\leq 5\%$ LMW- соединений	0,0	0,0	0,0	0,0
	c. $\leq 7\%$ HMW- соединений	2,2	2,1	2,2	2,1
Анализ вариантов, отличающихся зарядами, с помощью iCIEF	Приведенный % области 1	39,4			41,6
	Приведенный % области 2	42,5			42,4
	Приведенный % области 3	18,1			16,1
Анализ вариантов, отличающихся зарядами, с помощью	a. 15-60% области 1	45,8	46,0	45,3	45,7
	b. % гликированных соединений	32,5	32,3	32,2	32,5

СЕХ	(приведенный %)				
	c. $\geq 35\%$ области 2	48,2	48,3	48,5	48,5
	d. $\leq 25\%$ области 3	6,0	5,7	6,2	5,8
Твердые частицы (MFI™)	$2 \text{ мкм} \leq x < 10 \text{ мкм}$ (частицы/мл)	9537			469
	$\geq 10 \text{ мкм}$ (частицы/мл)	622			13
	$\geq 25 \text{ мкм}$ (частицы/мл)	76			4
Содержание полисорбата 20	Приведенный % PS20	0,05			
Активность согласно биологическому анализу	От 50% до 150% от эталонного стандарта	94			149

а. Критерии взяты из целевого показателя качества платформы FDG FBP-015-FD со специфичной для программы корректировкой. Результаты анализов без приведенного процентного значения целевого показателя качества представлены исключительно в информационных целях. Выделение ячеек серым цветом указывает на то, что тесты не проводили в установленный момент времени.

СЕХ: катионообменный; DS: лекарственное вещество; FDG: группа разработки составов; HMW: высокомолекулярный; iCIEF: капиллярное изоэлектрическое фокусирование под визуализационным контролем; LEFVP: жидкость, практически не содержащая видимых частиц; LMW: низкомолекулярный; MFI: визуализация микропотока™; MP: главный пик; SE-UPLC: эксклюзионная сверхвысокоэффективная жидкостная хроматография

Таблица 51А. Стабильность составленного лекарственного вещества на основе mAb1, инкубируемого при -20°C , 5°C

Состав	150 мг/мл REGN4018, 30 мМ ацетата, pH 5,0, 8% (вес/об.) сахарозы, 0,05% полисорбата 20		
Объем наполнения	2,5 мл		
Контейнер для хранения	Флакон Cellon на 5 мл из поликарбоната с укупорочным элементом с подкладкой из HDPE		
Условие хранения	Без хране	Хранение при -20°C (месяцы)	Хранение при 5°C (месяцы)

	с. $\leq 7\%$ НМW- соединений	2,2	2,2	2,2	2,1	2,3	2,3	2,5	2,6
Анализ вариант ов, отличаю щихся зарядам и, с помощь ю iCIEF	Приведенны й % области 1	39,4			41,3				43,6
	Приведенны й % области 2	42,5			42,1				40,2
	Приведенны й % области 3	18,1			16,6				16,3
Анализ вариант ов, отличаю щихся зарядам и, с помощь ю СЕХ	а. $15-60\%$ области 1	45,8	45,9	45,4	45,4	45,3	45,5	44,1	43,5
	б. $\%$ гликированн ых соединений (приведенны й %)	32,5	32,6	32,3	32,1	32,3	32,3	31,7	31,2
	с. $\geq 35\%$ области 2	48,2	48,4	48,3	48,6	48,9	48,8	49,9	50,7
	д. $\leq 25\%$ области 3	6,0	5,7	6,3	6,0	5,8	5,7	6,1	5,8
Твердые частицы (MFI™)	Приведенно е значение количества частиц/мл: $2 \text{ мкм} \leq x <$ 10 мкм (частицы/мл)	9537			284				298
	$\geq 10 \text{ мкм}$ (частицы/мл	622			35				29

	видимых частиц									
Прозрачность	Мутность не превышает такую у эталонной суспензии IV	He > II	He > II	He > III	He > III	He > III	He > II	He > III	He > III	He > III
Окраска	Интенсивность окраски не превышает такую у эталонного раствора BY2	He > BY4	He > BY4	He > BY4	He > BY4	He > BY4	He > BY4	He > BY4	He > BY4	He > BY3
pH	От 4,8 до 5,2	5,0	5,0	5,0	5,1	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0
Общий белок	От 45 до 55 мг/мл	146,3	149,2	149,5	160,6	162,6	142,5	146,8	151,9	164,0
Чистота согласно SE-UPLC	а. Чистота $\geq 90\%$ общей площади пиков	97,8	97,4	97,1	96,5	95,7	95,7	94,7	92,1	80,9

	b. $\leq 5\%$ LMW- соедине ний	0,0	0,0	0,1	0,0	0,1	0,3	0,0	0,1	1,2
	c. $\leq 7\%$ HMW- соедине ний	2,2	2,6	2,8	3,5	4,2	4,0	5,3	7,8	17,9
Анализ вариантов, отличающи хся зарядами, с помощью iCIEF	Приведе нный % области 1	39,4				50,5				70,1
	Приведе нный % области 2	42,5				32,3				19,5
	Приведе нный % области 3	18,1				17,2				10,3
Анализ вариантов, отличающи хся зарядами, с помощью СЕХ	a. 15- 60% области 1	45,8	41,4	38,7	29,2	23,4	30,9	23,5	18,4	25,2
	b. % гликиро ванных соедине ний (приведе нный %)	32,5	29,5	27,2	18,6	13,1	20,4	13,4	7,6	12,0
	c. $\geq 35\%$ области 2	48,2	52,8	56,0	65,5	70,5	63,4	69,2	72,0	55,0

	d. ≤ 25% области 3	6,0	5,8	5,3	5,3	6,1	5,7	7,3	9,6	19,8
Твердые частицы (MFI™)	Приведе нное значени е количес тва частиц/м л: 2 мкм ≤ x < 10 мкм (частиц ы/мл)	9537				58				113
	≥ 10 мкм (частиц ы/мл)	622				4				19
	≥ 25 мкм (частиц ы/мл)	76				4				0

а Критерии взяты из целевого показателя качества платформы FDG FBP-015-FD со специфичной для программы корректировкой. Результаты анализов без приведенного процентного значения целевого показателя качества представлены исключительно в информационных целях. Выделение ячеек серым цветом указывает на то, что тесты не проводили в установленный момент времени.

СЕХ: катионообменный; DS: лекарственное вещество; FDG: группа разработки составов; НМВ: высокомолекулярный; iCIEF: капиллярное изоэлектрическое фокусирование под визуализационным контролем; LEFVP: жидкость, практически не содержащая видимых частиц; LMW: низкомолекулярный; MFI: визуализация микропотока™; МР: главный пик; SE-UPLC: эксклюзионная сверхвысокоэффективная жидкостная хроматография

Таблица 52. Стабильность составленного лекарственного вещества на основе mAb1 - эффект перемешивания и замораживания/размораживания

Состав	150 мг/мл REGN4018, 30 мМ ацетата, pH 5,0, 8% (вес/об.) сахарозы, 0,05% полисорбата 20
--------	--

Объем наполнения		2,5 мл				
Контейнер для хранения		Флакон Cellon на 5 мл из поликарбоната с укупорочным элементом с подкладкой из HDPE				
Условие хранения		Без стресса	Перемешивание (минуты)		Замораживание/размораживание (циклы)	
Анализ	Критерии приемлемости качества ^a	T=0	60	120	2	4
Физическая форма/состояние	Жидкость, практически не содержащая видимых частиц	LEFVP	LEFVP	LEFVP	LEFVP	LEFVP
Прозрачность	Мутность не превышает такую эталонной суспензии IV	He > II	He > II	He > II	He > II	He > II
Окраска	Интенсивность окраски не превышает такую эталонного раствора BY2	He > BY4	He > BY4	He > BY4	He > BY4	He > BY4
pH	От 5,8 до 6,2	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0
Общий белок	От 22,5 до 27,5 мг/мл	146,3	145,4	144,9	147,6	146,9
Чистота согласно SE-UPLC	а. Чистота \geq 90% общей площади пиков	97,8	97,8	97,8	97,8	97,8
	б. \leq 5% LMW-соединений	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	с. \leq 7% HMW-соединений	2,2	2,2	2,2	2,2	2,2

Анализ вариантов, отличающихся зарядами, с помощью iCIEF	a. $\leq 75\%$ области 1	39,4		39,3		39,3
	b. $\geq 25\%$ области 2	42,5		43,0		43,2
	c. $\leq 25\%$ области 3	18,1		17,7		17,6
Анализ вариантов, отличающихся зарядами, с помощью СЕХ	a. 15-60% области 1	45,8	45,6	45,8	45,3	45,5
	b. % гликированных соединений (приведенный %)	32,5	32,4	32,4	32,3	32,5
	c. $\geq 35\%$ области 2	48,2	48,3	48,3	48,5	48,3
	d. $\leq 25\%$ области 3	6,0	6,0	5,9	6,2	6,2
Твердые частицы (МФГ™)	$2 \text{ мкм} \leq x < 10 \text{ мкм}$ (частицы/мл)	9537		1353		242
	$\geq 10 \text{ мкм}$ (частицы/мл)	622		90		19
	$\geq 25 \text{ мкм}$ (частицы/мл)	76		15		13

а Критерии взяты из целевого показателя качества платформы FDG FBP-015-FD со специфичной для программы корректировкой. Результаты анализов без приведенного процентного значения целевого показателя качества представлены исключительно в информационных целях. Выделение ячеек серым цветом указывает на то, что тесты не проводили в установленный момент времени.

СЕХ: катионообменный; DS: лекарственное вещество; FDG: группа разработки составов; НМВ: высокомолекулярный; iCIEF: капиллярное изоэлектрическое фокусирование под визуализационным контролем; LEFVP: жидкость, практически не содержащая видимых частиц; LMW: низкомолекулярный; визуализация микропотока™; МР: главный пик; SE-UPLC: эксклюзионная сверхвысокоэффективная жидкостная хроматография

[0185] Объем настоящего изобретения не должен ограничиваться конкретными вариантами осуществления, описанными в данном документе. В действительности различные модификации настоящего изобретения в дополнение к описанным в данном документе будут очевидны специалистам в данной области техники на основании вышеизложенного описания. Предполагается, что такие модификации находятся в пределах объема прилагаемой формулы изобретения.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Стабильный жидкий фармацевтический состав, содержащий:

(а) биспецифическое антитело, содержащее первый антигенсвязывающий домен, который специфично связывается с MUC16 человека, и второй антигенсвязывающий домен, который специфично связывается с CD3 человека, где первый антигенсвязывающий домен содержит три области, определяющие комплементарность (CDR), тяжелой цепи (A1-HCDR1, A1-HCDR2 и A1-HCDR3), содержащиеся в варибельной области тяжелой цепи (HCVR), и три CDR легкой цепи (LCDR1, LCDR2 и LCDR3), содержащиеся в варибельной области легкой цепи (LCVR), и второй антигенсвязывающий домен содержит три CDR тяжелой цепи (A2-HCDR1, A2-HCDR2 и A2-HCDR3), содержащиеся в варибельной области тяжелой цепи (HCVR), и три CDR легкой цепи (LCDR1, LCDR2 и LCDR3), содержащиеся в варибельной области легкой цепи (LCVR), где A1-HCDR1, A1-HCDR2 и A1-HCDR3 содержат аминокислотные последовательности под SEQ ID NO: 7, 8 и 9 соответственно, A2-HCDR1, A2-HCDR2 и A2-HCDR3 содержат аминокислотные последовательности под SEQ ID NO: 10, 11 и 12 соответственно, и LCDR1, LCDR2 и LCDR3 содержат аминокислотные последовательности под SEQ ID NO: 13, 14 и 15 соответственно;

(b) буфер, содержащий ацетат натрия;

(c) органический соразтворитель, содержащий полисорбат; и

(d) стабилизатор, содержащий сахар;

где состав имеет pH $5,0 \pm 0,5$.

2. Фармацевтический состав по п. 1, где концентрация антитела составляет от 1 мг/мл $\pm 0,1$ мг/мл до 200 мг/мл ± 20 мг/мл.

3. Фармацевтический состав по п. 2, где концентрация антитела составляет от 5 мг/мл $\pm 0,5$ мг/мл до 50 мг/мл ± 5 мг/мл.

4. Фармацевтический состав по п. 3, где концентрация антитела составляет 5 мг/мл $\pm 0,5$ мг/мл.

5. Фармацевтический состав по п. 3, где концентрация антитела составляет 50 мг/мл ± 5 мг/мл.

6. Фармацевтический состав по любому из пп. 1-5, где концентрация ацетатного буфера составляет от 10 мМ ± 1 мМ до 50 мМ ± 5 мМ.

7. Фармацевтический состав по п. 6, где концентрация ацетатного буфера составляет от 25 мМ $\pm 2,5$ мМ до 35 мМ $\pm 3,5$ мМ.

8. Фармацевтический состав по п. 7, где концентрация ацетатного буфера составляет 30 мМ ± 3 мМ.

9. Фармацевтический состав по любому из пп. 1-8, где концентрация полисорбата составляет от 0,01% $\pm 0,005\%$ до 0,5% $\pm 0,05\%$ вес/об.

10. Фармацевтический состав по п. 9, где концентрация полисорбата составляет от 0,1% $\pm 0,05\%$ до 0,3% $\pm 0,03\%$ вес/об.

11. Фармацевтический состав по п. 9, где концентрация полисорбата составляет

0,2%±0,02% вес/об.

12. Фармацевтический состав по любому из пп. 1-11, где полисорбат представляет собой полисорбат 20.

13. Фармацевтический состав по любому из пп. 1-12, где сахар представляет собой сахарозу.

14. Фармацевтический состав по п. 13, где концентрация сахарозы составляет от 5% ± 1% до 20%±4% вес/об.

15. Фармацевтический состав по п. 14, где концентрация сахарозы составляет от 7%±0,5% до 12%±0,5% вес/об.

16. Фармацевтический состав по п. 15, где концентрация сахарозы составляет 10%±1% вес/об.

17. Фармацевтический состав по п. 1, содержащий:

(a) 5 мг/мл±0,5 мг/мл антитела,

(b) от 25 мМ±2 мМ до 35 мМ±2 мМ ацетатного буфера,

(c) от 0,1%±0,05% до 0,3%±0,05% вес/об. полисорбата и

(d) от 5%±1% до 15%±3% вес/об. сахарозы,

при pH 5,0±0,5.

18. Фармацевтический состав по п. 17, содержащий:

(a) 5 мг/мл±0,5 мг/мл антитела,

(b) 30 мМ±1 мМ ацетатного буфера,

(c) 0,2%±0,02% вес/об. полисорбата и

(d) 10%±1% вес/об. сахарозы,

при pH 5,0±0,3.

19. Фармацевтический состав по п. 1, содержащий:

(a) 50 мг/мл±5 мг/мл антитела,

(b) от 25 мМ±2 мМ до 35 мМ±2 мМ ацетатного буфера,

(c) от 0,1%±0,05% до 0,3%±0,05% вес/об. полисорбата и

(d) от 5%±1% до 15%±3% вес/об. сахарозы,

при pH 5,0±0,5.

20. Фармацевтический состав по п. 19, содержащий:

(a) 50 мг/мл±0,5 мг/мл антитела,

(b) 30 мМ±1 мМ ацетатного буфера,

(c) 0,2%±0,02% вес/об. полисорбата и

(d) 10%±1% вес/об. сахарозы,

при pH 5,0±0,3.

21. Фармацевтический состав по любому из пп. 17-20, где полисорбат представляет собой полисорбат 20.

22. Фармацевтический состав по любому из пп. 1-21, где состав содержит не более чем 2,5% высокомолекулярных (HMW) соединений после 12 месяцев или 24 месяцев хранения при 5°C, как определено с помощью SE-UPLC.

23. Фармацевтический состав по любому из пп. 1-21, где состав содержит не более чем 3,5% высокомолекулярных (HMW) соединений после 6 месяцев хранения при 25°C и относительной влажности 60%, как определено с помощью SE-UPLC.

24. Фармацевтический состав по любому из пп. 1-21, где состав содержит не более чем 1,5% высокомолекулярных (HMW) соединений после 12 месяцев хранения при -30°C или не более чем 2,0% HMW-соединений после 24 месяцев хранения при -30°C, как определено с помощью SE-UPLC.

25. Фармацевтический состав по любому из пп. 1-21, где состав содержит не более чем 1,5% высокомолекулярных (HMW) соединений после 12 месяцев хранения при -80°C или не более чем 2,0% HMW-соединений после 24 месяцев хранения при -30°C, как определено с помощью SE-UPLC.

26. Стабильный жидкий фармацевтический состав, восстановленный из лиофилизата, содержащий:

(а) биспецифическое антитело в концентрации от 1 мг/мл до 30 мг/мл, где биспецифическое антитело содержит первый антигенсвязывающий домен, который специфично связывается с MUC16 человека, и второй антигенсвязывающий домен, который специфично связывается с CD3 человека, где первый антигенсвязывающий домен содержит три области, определяющие комплементарность (CDR), тяжелой цепи (A1-HCDR1, A1-HCDR2 и A1-HCDR3), содержащиеся в варибельной области тяжелой цепи (HCVR), и три CDR легкой цепи (LCDR1, LCDR2 и LCDR3), содержащиеся в варибельной области легкой цепи (LCVR), и второй антигенсвязывающий домен содержит три CDR тяжелой цепи (A2-HCDR1, A2-HCDR2 и A2-HCDR3), содержащиеся в варибельной области тяжелой цепи (HCVR), и три CDR легкой цепи (LCDR1, LCDR2 и LCDR3), содержащиеся в варибельной области легкой цепи (LCVR), где A1-HCDR1, A1-HCDR2 и A1-HCDR3 содержат аминокислотные последовательности под SEQ ID NO: 7, 8 и 9 соответственно, A2-HCDR1, A2-HCDR2 и A2-HCDR3 содержат аминокислотные последовательности под SEQ ID NO: 10, 11 и 12 соответственно, и LCDR1, LCDR2 и LCDR3 содержат аминокислотные последовательности под SEQ ID NO: 13, 14 и 15 соответственно;

(b) буфер, содержащий гистидин;

(c) органический соразтворитель, содержащий полисорбат; и

(d) стабилизатор, содержащий сахар;

где состав имеет pH $6,0 \pm 0,5$.

27. Фармацевтический состав по п. 26, где концентрация антитела составляет 2 мг/мл $\pm 0,5$ мг/мл или 20 мг/мл ± 2 мг/мл.

28. Фармацевтический состав по п. 27, где концентрация гистидинового буфера составляет от 5 мМ ± 1 мМ до 15 мМ ± 1 мМ.

29. Фармацевтический состав по п. 28, где концентрация гистидинового буфера составляет 10 мМ ± 1 мМ.

30. Фармацевтический состав по любому из пп. 26-29, где концентрация

полисорбата составляет от 0,01% до 0,1% вес/об.

31. Фармацевтический состав по п. 30, где концентрация полисорбата составляет $0,05\% \pm 0,01\%$ вес/об.

32. Фармацевтический состав по любому из пп. 26-31, где полисорбат представляет собой полисорбат 20.

33. Фармацевтический состав по любому из пп. 26-32, где сахар представляет собой сахарозу.

34. Фармацевтический состав по п. 33, где концентрация сахарозы составляет от $8\% \pm 0,5\%$ до $12\% \pm 0,5\%$ вес/об.

35. Фармацевтический состав по п. 34, где концентрация сахарозы составляет $10\% \pm 1\%$ вес/об.

36. Фармацевтический состав по любому из пп. 26-35, где (a) по меньшей мере 95% антитела характеризуются нативной конформацией после 12 месяцев, после 18 месяцев, после 24 месяцев или после 36 месяцев хранения при 5°C ; (b) по меньшей мере 95% антитела характеризуются нативной конформацией после 6 месяцев хранения при 25°C и относительной влажности 60%; (c) по меньшей мере 95% антитела характеризуются нативной конформацией после 3 месяцев хранения при 37°C ; (d) состав содержит не более чем 1% высокомолекулярных (HMW) соединений после 12 месяцев, после 18 месяцев, после 24 месяцев или после 36 месяцев хранения при 5°C ; (e) состав содержит не более чем 1% HMW-соединений после 6 месяцев хранения при 25°C и относительной влажности 60% или (f) состав содержит не более чем 1% HMW-соединений после 3 месяцев хранения при 37°C ;

как определено с помощью SE-UPLC.

37. Стабильный жидкий фармацевтический состав, содержащий:

(a) биспецифическое антитело в концентрации от 100 мг/мл до 200 мг/мл, где биспецифическое антитело содержит первый антигенсвязывающий домен, который специфично связывается с MUC16 человека, и второй антигенсвязывающий домен, который специфично связывается с CD3 человека, где первый антигенсвязывающий домен содержит три области, определяющие комплементарность (CDR), тяжелой цепи (A1-HCDR1, A1-HCDR2 и A1-HCDR3), содержащиеся в варибельной области тяжелой цепи (HCVR), и три CDR легкой цепи (LCDR1, LCDR2 и LCDR3), содержащиеся в варибельной области легкой цепи (LCVR), и второй антигенсвязывающий домен содержит три CDR тяжелой цепи (A2-HCDR1, A2-HCDR2 и A2-HCDR3), содержащиеся в варибельной области тяжелой цепи (HCVR), и три CDR легкой цепи (LCDR1, LCDR2 и LCDR3), содержащиеся в варибельной области легкой цепи (LCVR), где A1-HCDR1, A1-HCDR2 и A1-HCDR3 содержат аминокислотные последовательности под SEQ ID NO: 7, 8 и 9 соответственно, A2-HCDR1, A2-HCDR2 и A2-HCDR3 содержат аминокислотные последовательности под SEQ ID NO: 10, 11 и 12 соответственно, и LCDR1, LCDR2 и LCDR3 содержат аминокислотные последовательности под SEQ ID NO: 13, 14 и 15 соответственно;

- (b) буфер, содержащий ацетат;
 - (c) стабилизатор, содержащий сахар; и
 - (d) поверхностно-активное вещество, содержащее полисорбат;
- где состав имеет pH $5,0 \pm 0,5$.

38. Фармацевтический состав по п. 37, где концентрация антитела составляет от 125 мг/мл до 175 мг/мл.

39. Фармацевтический состав по п. 38, где концентрация антитела составляет 150 мг/мл ± 10 мг/мл.

40. Фармацевтический состав по любому из пп. 37-39, где сахар представляет собой сахарозу.

41. Фармацевтический состав по п. 40, где концентрация сахарозы составляет от 4% до 12% вес/об.

42. Фармацевтический состав по п. 41, где концентрация сахарозы составляет 8% вес/об. $\pm 1\%$ вес/об.

43. Фармацевтический состав по любому из пп. 37-42, где концентрация ацетатного буфера составляет от 25 мМ до 35 мМ.

44. Фармацевтический состав по п. 43, где концентрация ацетатного буфера составляет 30 мМ ± 1 мМ.

45. Фармацевтический состав по любому из пп. 37-44, где полисорбат представляет собой полисорбат 20.

46. Фармацевтический состав по п. 45, где концентрация полисорбата 20 составляет от 0,01% вес/об. до 0,1% вес/об.

47. Фармацевтический состав по п. 46, где концентрация полисорбата 20 составляет 0,05% вес/об. $\pm 0,01\%$ вес/об.

48. Фармацевтический состав по любому из пп. 37-47, где (a) состав содержит не более чем 2,5% высокомолекулярных (HMW) соединений после 12 месяцев или после 24 месяцев хранения при -30°C или -80°C ; (b) состав содержит не более чем 4% HMW-соединений после 6 месяцев хранения при 5°C или (c) состав содержит не более чем 6% HMW-соединений после 6 месяцев хранения при 25°C и относительной влажности 60%; как определено с помощью SE-UPLC.

49. Фармацевтический состав по любому из пп. 1-48, где состав содержит не более чем 40% гликированных вариантов соединений, где гликированный вариант соединения характеризуется гликированием по остатку 98 в SEQ ID NO: 1 или SEQ ID NO: 4 или остатку 2 в SEQ ID NO: 9.

50. Фармацевтический состав по любому из пп. 1-49, где первый антигенсвязывающий домен содержит HCVR с по меньшей мере 90% идентичностью с аминокислотной последовательностью под SEQ ID NO: 4 и LCVR с по меньшей мере 90% идентичностью с аминокислотной последовательностью под SEQ ID NO: 6, и второй антигенсвязывающий домен содержит HCVR с по меньшей мере 90% идентичностью с аминокислотной последовательностью под SEQ ID NO: 5 и LCVR с по меньшей мере 90%

идентичностью с аминокислотной последовательностью под SEQ ID NO: 6.

51. Фармацевтический состав по п. 50, где первый антигенсвязывающий домен содержит HCVR с по меньшей мере 95% идентичностью с аминокислотной последовательностью под SEQ ID NO: 4 и LCVR с по меньшей мере 95% идентичностью с аминокислотной последовательностью под SEQ ID NO: 6, и второй антигенсвязывающий домен содержит HCVR с по меньшей мере 95% идентичностью с аминокислотной последовательностью под SEQ ID NO: 5 и LCVR с по меньшей мере 95% идентичностью с аминокислотной последовательностью под SEQ ID NO: 6.

52. Фармацевтический состав по п. 51, где первый антигенсвязывающий домен содержит HCVR с по меньшей мере 99% идентичностью с аминокислотной последовательностью под SEQ ID NO: 4 и LCVR с по меньшей мере 99% идентичностью с аминокислотной последовательностью под SEQ ID NO: 6, и второй антигенсвязывающий домен содержит HCVR с по меньшей мере 99% идентичностью с аминокислотной последовательностью под SEQ ID NO: 5 и LCVR с по меньшей мере 99% идентичностью с аминокислотной последовательностью под SEQ ID NO: 6.

53. Фармацевтический состав по любому из пп. 1-52, где первый антигенсвязывающий домен содержит HCVR, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 4, и LCVR, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 6, и второй антигенсвязывающий домен содержит HCVR, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 5, и LCVR, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 6.

54. Стабильный фармацевтический состав, содержащий:

(a) 5 мг/мл \pm 0,5 мг/мл биспецифического антитела, содержащего первый антигенсвязывающий домен, который специфично связывается с MUC16 человека, и второй антигенсвязывающий домен, который специфично связывается с CD3 человека, где первый антигенсвязывающий домен содержит HCVR, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 4, и LCVR, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 6, и второй антигенсвязывающий домен содержит HCVR, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 5, и LCVR, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 6;

(b) 30 мМ \pm 1 мМ буфера на основе ацетата натрия, pH 5,0 \pm 0,2,

(c) 0,2% \pm 0,02% вес/об. полисорбата 20 и

(d) 10% \pm 1% вес/об. сахарозы.

55. Стабильный фармацевтический состав, содержащий:

(a) 50 мг/мл \pm 5 мг/мл биспецифического антитела, содержащего первый антигенсвязывающий домен, который специфично связывается с MUC16 человека, и второй антигенсвязывающий домен, который специфично связывается с CD3 человека, где первый антигенсвязывающий домен содержит HCVR, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 4, и LCVR, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 6, и второй антигенсвязывающий домен содержит

HCVR, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 5, и LCVR, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 6;

(b) 30 мМ±1 мМ буфера на основе ацетата натрия, pH 5,0±0,2,

(c) 0,2%±0,02% вес/об. полисорбата 20 и

(d) 10%±1% вес/об. сахарозы.

56. Стабильный фармацевтический состав, содержащий:

(a) 150 мг/мл ± 15 мг/мл биспецифического антитела, содержащего первый антигенсвязывающий домен, который специфично связывается с MUC16 человека, и второй антигенсвязывающий домен, который специфично связывается с CD3 человека, где первый антигенсвязывающий домен содержит HCVR, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 4, и LCVR, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 6, и второй антигенсвязывающий домен содержит HCVR, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 5, и LCVR, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 6;

(b) 30 мМ±1 мМ буфера на основе ацетата натрия, pH 5,0±0,2,

(c) 0,05%±0,01% вес/об. полисорбата 20 и

(d) 8%±1% вес/об. сахарозы.

57. Фармацевтический состав по любому из пп. 50-56, где антитело содержит константную область тяжелой цепи IgG человека, присоединенную соответственно к HCVR каждого из первого антигенсвязывающего домена и второго антигенсвязывающего домена.

58. Фармацевтический состав по п. 57, где константная область тяжелой цепи относится к изотипу IgG1.

59. Фармацевтический состав по п. 57, где константная область тяжелой цепи относится к изотипу IgG4.

60. Фармацевтический состав по любому из пп. 57-59, где константная область тяжелой цепи, присоединенная к HCVR первого антигенсвязывающего домена, или константная область тяжелой цепи, присоединенная к HCVR второго антигенсвязывающего домена, но не они обе, содержит аминокислотную модификацию, которая обеспечивает снижение связывания с белком А по сравнению с тяжелой цепью того же изотипа без модификации.

61. Фармацевтический состав по п. 60, где модификация предусматривает замену H435R (нумерация согласно EU) в тяжелой цепи изотипа IgG1 или IgG4.

62. Фармацевтический состав по п. 60, где модификация предусматривает замену H435R и замену Y436F (нумерация согласно EU) в тяжелой цепи изотипа IgG1 или IgG4.

63. Фармацевтический состав по любому из пп. 57-59, где антитело содержит константную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 18 и SEQ ID NO: 19.

64. Фармацевтический состав по п. 63, где антитело содержит константную область

тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 16, и константную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 17.

65. Фармацевтический состав по п. 63, где антитело содержит константную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 18, и константную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 19.

66. Фармацевтический состав по любому из пп. 50-56, где антитело содержит первую тяжелую цепь, содержащую HCVR первого антигенсвязывающего домена, и вторую тяжелую цепь, содержащую HCVR второго антигенсвязывающего домена, где первая тяжелая цепь содержит остатки 1-442 из аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 1, и вторая тяжелая цепь содержит остатки 1-449 из аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 2.

67. Фармацевтический состав по п. 66, где антитело содержит общую легкую цепь, содержащую LCVR первого и второго антигенсвязывающих доменов, где общая легкая цепь содержит аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 3.

68. Фармацевтический состав по любому из пп. 1-67, где изменение процентного содержания гликированных соединений является следующим: (i) не более чем 1,5% после 6 месяцев хранения при 5°C; (ii) не более чем 3% после 12 месяцев хранения при 5°C; (iii) не более чем 1,5% после 12 месяцев, после 18 месяцев или после 24 месяцев хранения при -30°C или не более чем 1% после 12 месяцев, после 18 месяцев или после 24 месяцев хранения при -80°C, как определено с помощью катионообменной сверхэффективной жидкостной хроматографии (CEX-UPLC) и/или с помощью жидкостной хроматографии с масс-спектрометрией (LC-MS).

69. Фармацевтическая композиция, где композиция содержит фармацевтический состав по любому из пп. 1-68, и композиция содержится в контейнере.

70. Фармацевтическая композиция по п. 69, где контейнер представляет собой флакон.

71. Фармацевтическая композиция по п. 70, где флакон представляет собой флакон на 2 мл, 5 мл или 10 мл из прозрачного стекла 1 типа.

72. Фармацевтическая композиция по п. 69, где контейнер представляет собой шприц.

73. Фармацевтическая композиция по п. 72, где шприц изготовлен из стекла с низким содержанием вольфрама.

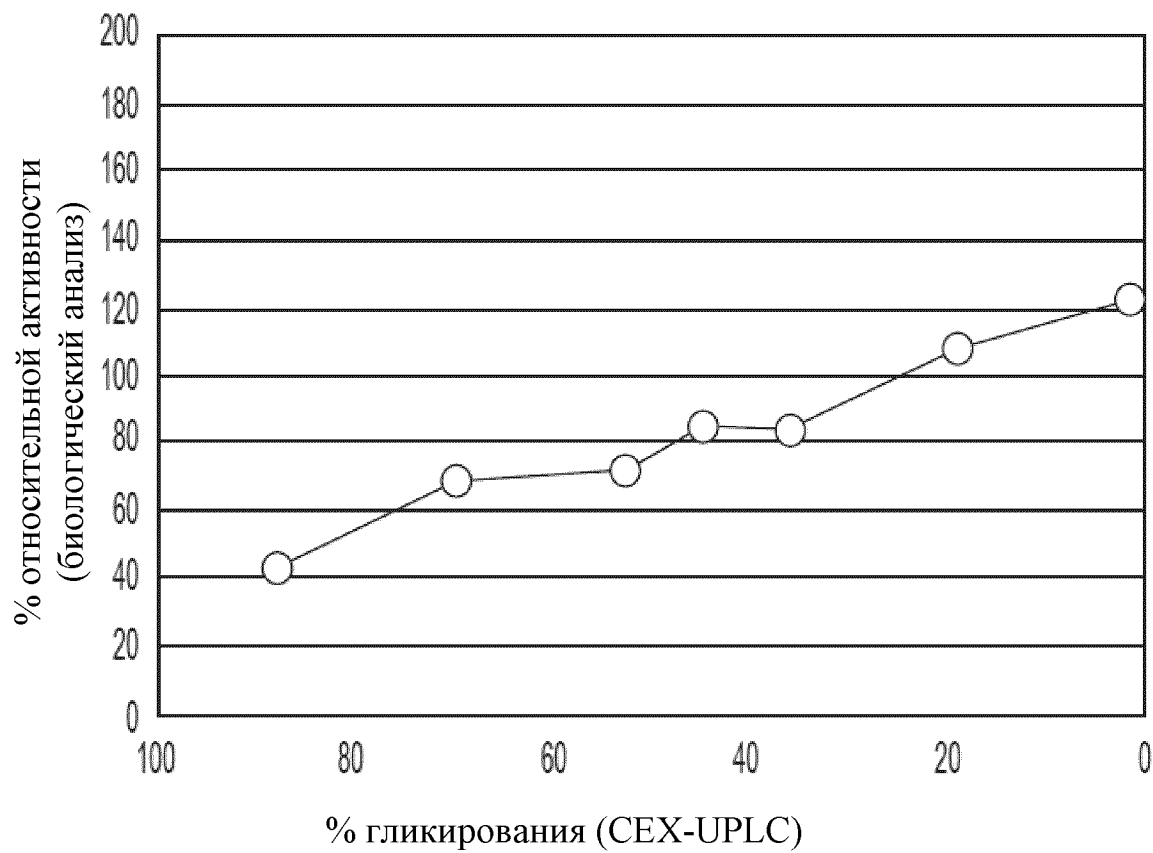
74. Фармацевтическая композиция по п. 69, где контейнер представляет собой предварительно заполненный шприц.

75. Фармацевтическая композиция по п. 69, содержащаяся в автоинъекторе.

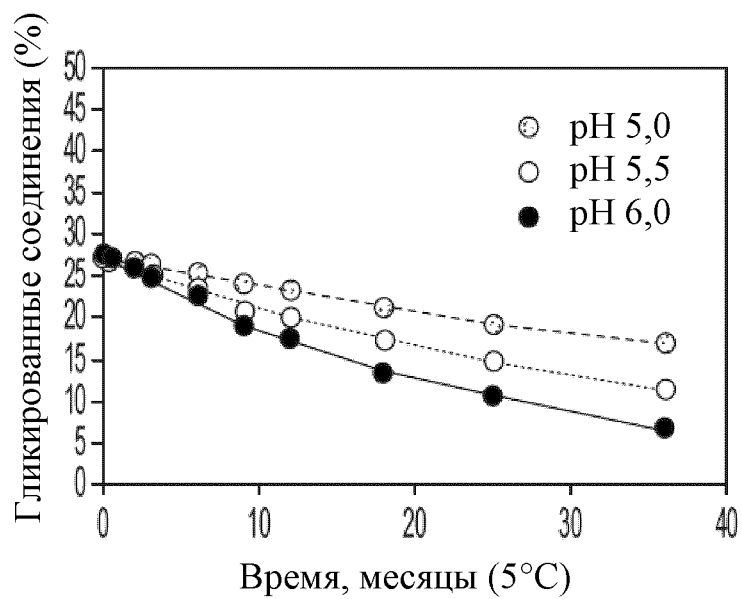
76. Набор, содержащий (i) контейнер, содержащий композицию, содержащую фармацевтический состав по любому из пп. 1-68, и инструкции по применению композиции.

77. Набор по п. 76, где контейнер представляет собой стеклянный флакон.
78. Набор по п. 76, где контейнер представляет собой предварительно заполненный шприц.
79. Набор по п. 76, где контейнер представляет собой автоинъектор.
80. Набор по п. 76, где в инструкциях указано подкожное введение композиции.
81. Набор по п. 76, где в инструкциях указано внутривенное введение композиции.
82. Стандартная лекарственная форма, содержащая фармацевтический состав по любому из пп. 1-68, где антитело присутствует в количестве от 0,1 мг до 500 мг.
83. Стандартная лекарственная форма по п. 82, где антитело присутствует в количестве от 1 до 20 мг.
84. Стандартная лекарственная форма по п. 82, где антитело присутствует в количестве от 100 до 200 мг.
85. Стандартная лекарственная форма по п. 82, которая представляет собой стеклянный флакон.
86. Стандартная лекарственная форма по п. 82, которая представляет собой предварительно заполненный шприц.
87. Стандартная лекарственная форма по п. 82, которая представляет собой автоинъектор.
88. Контейнер, содержащий композицию, содержащую фармацевтический состав по любому из пп. 1-68.
89. Контейнер по п. 88, который представляет собой стеклянный флакон.
90. Контейнер по п. 88, который представляет собой предварительно заполненный шприц.
91. Контейнер по п. 88, который представляет собой автоинъектор.

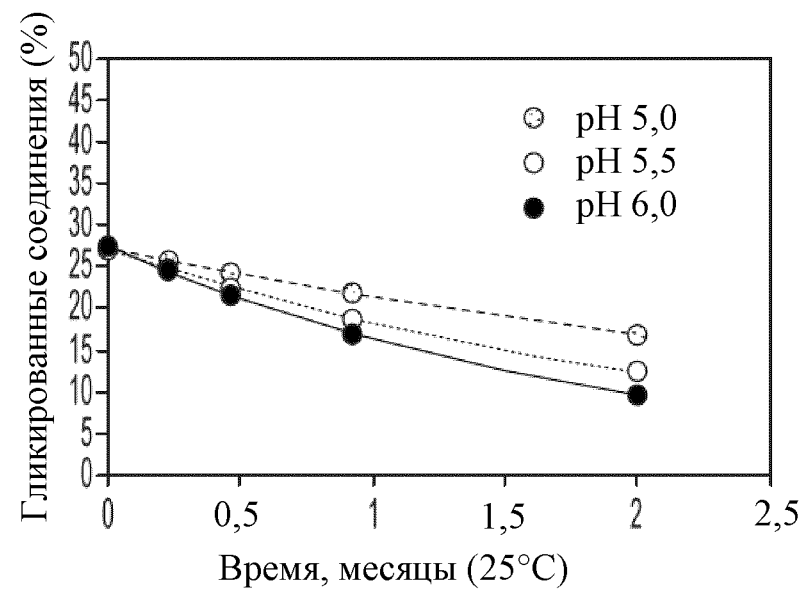
По доверенности



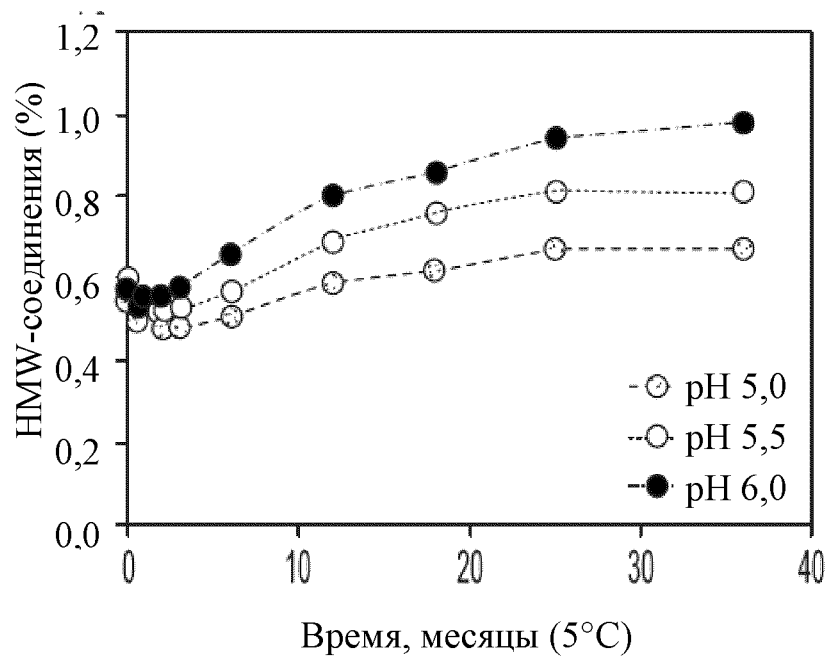
ФИГ. 1



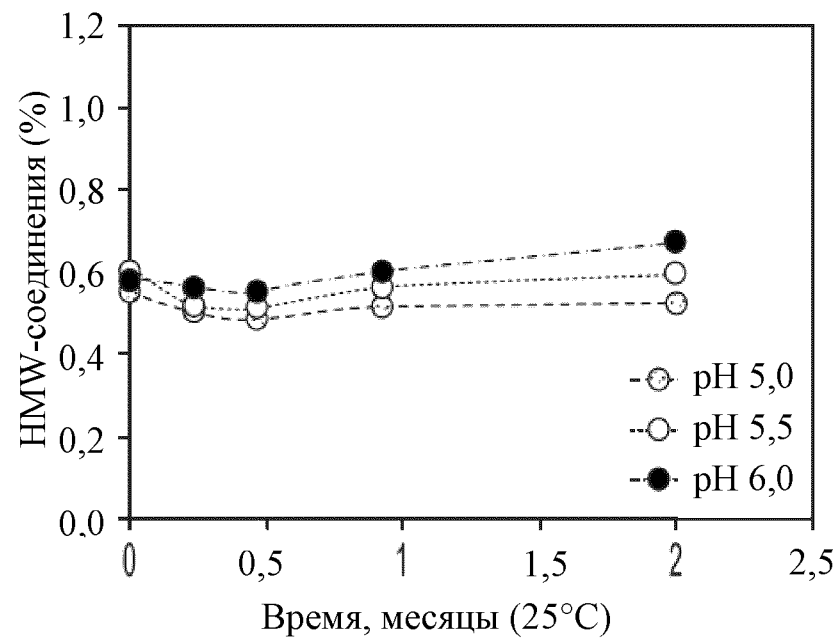
ФИГ. 2А



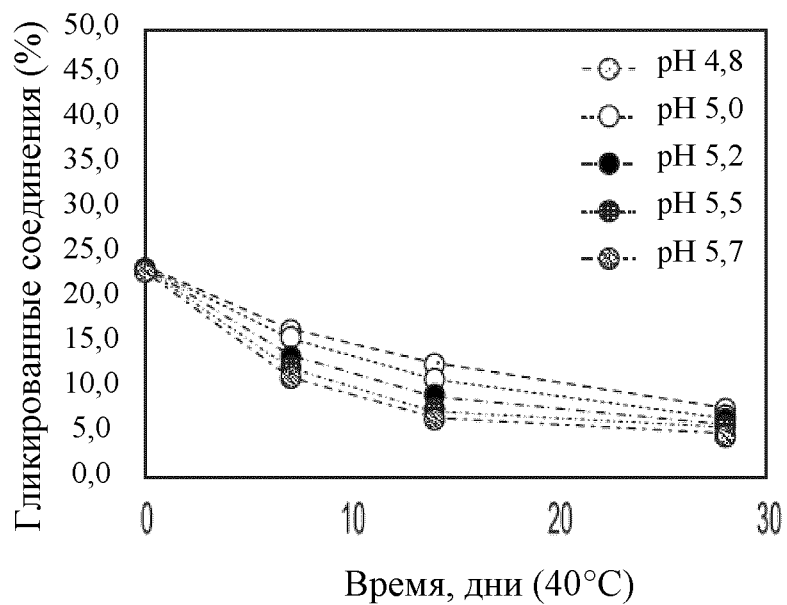
ФИГ. 2В



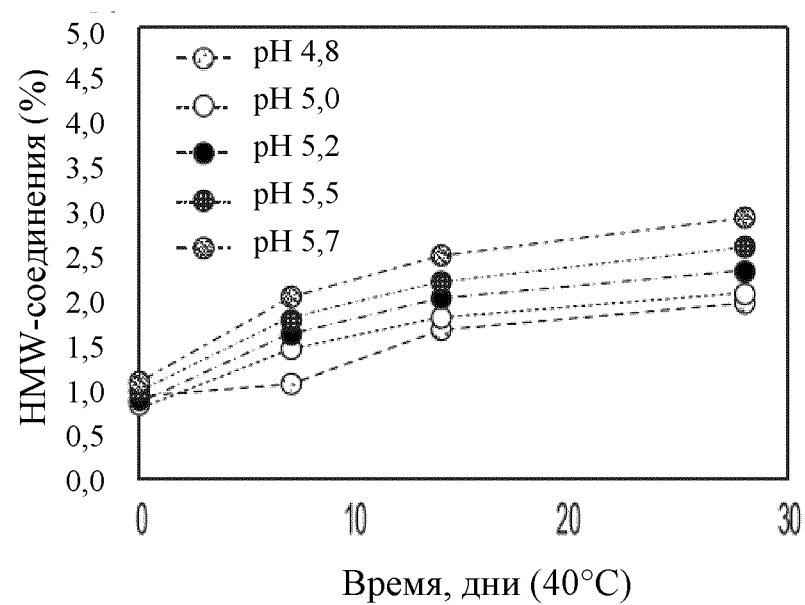
ФИГ. 2С



ФИГ. 2D



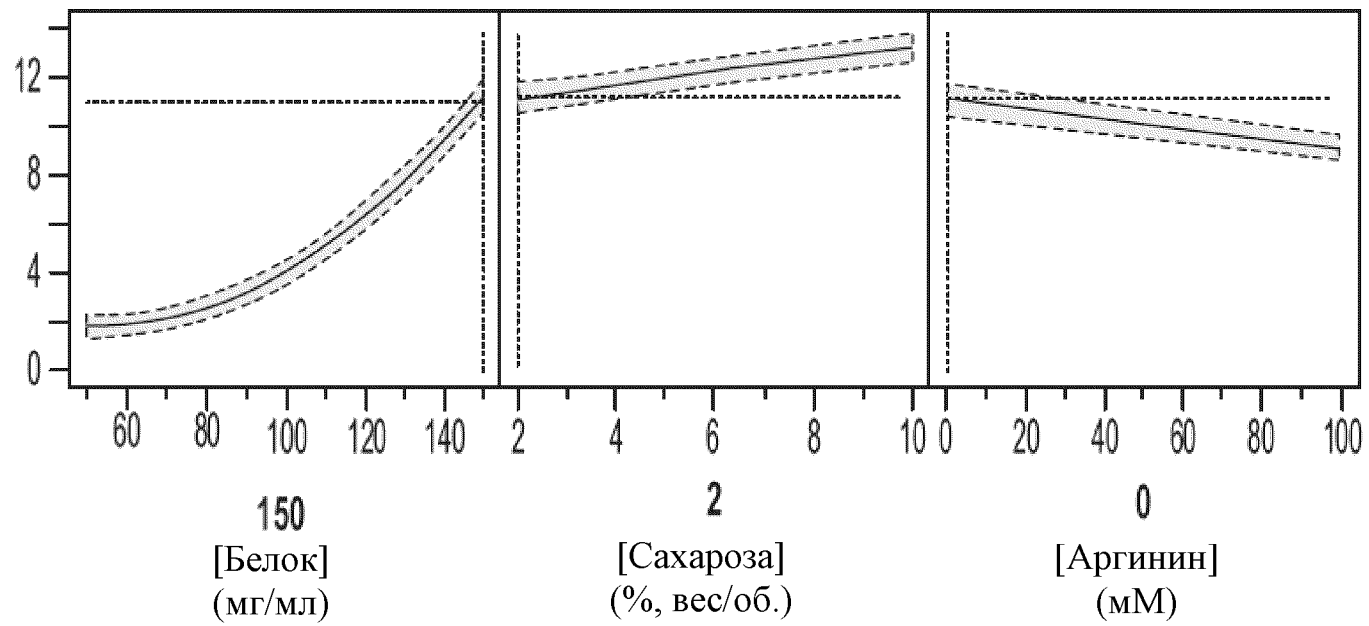
ФИГ. 3А



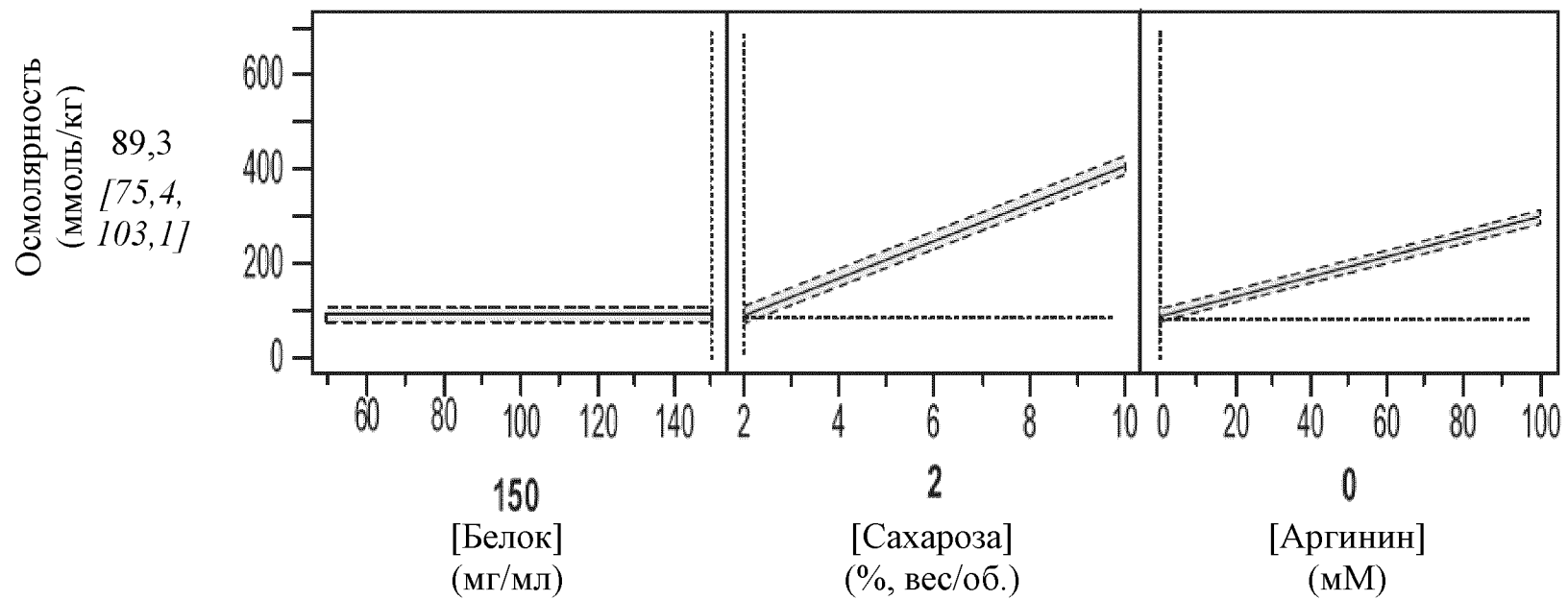
ФИГ. 3В

Вязкость при 20°C
(сП)

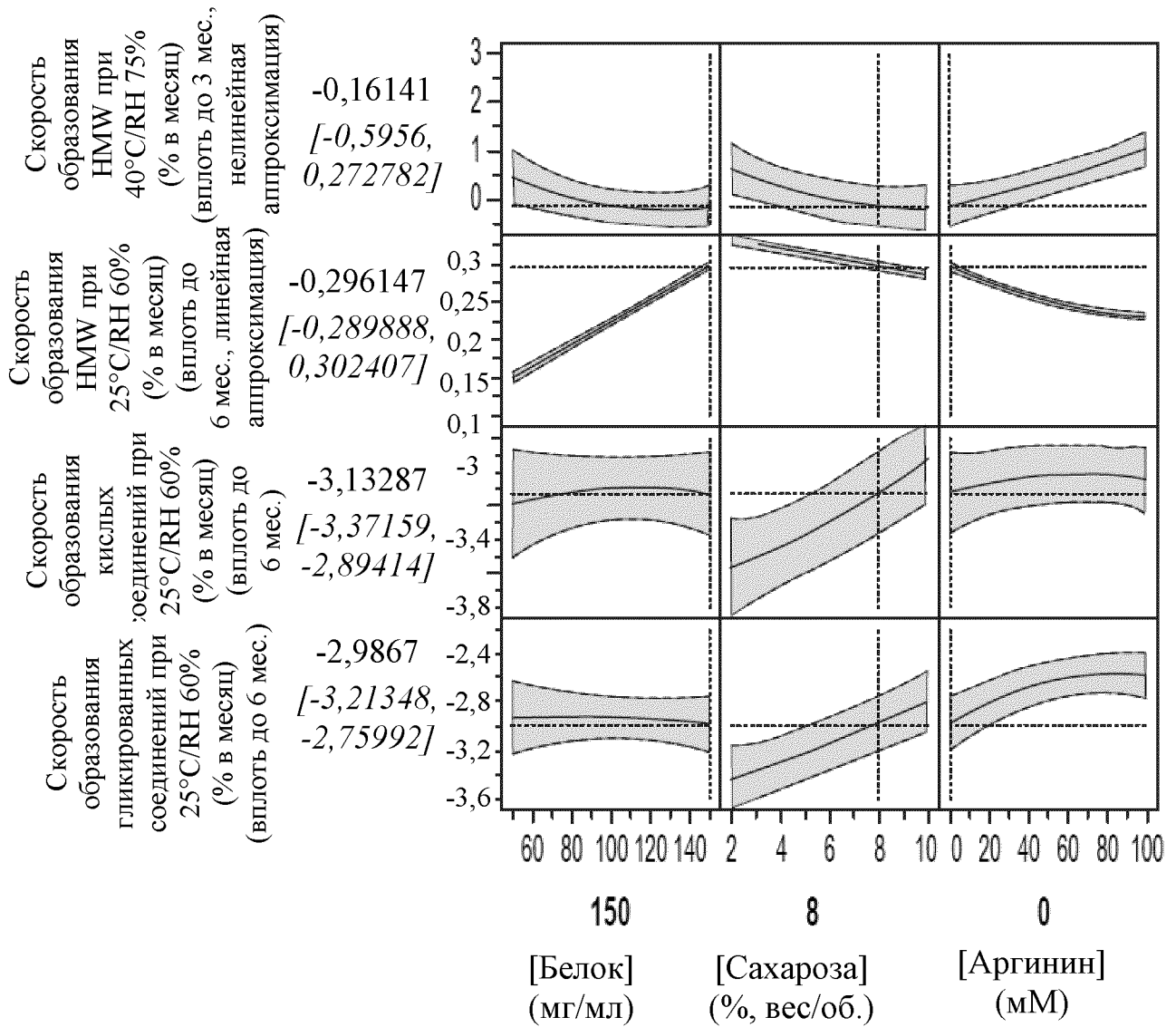
11,0
[10,4,
11,7]



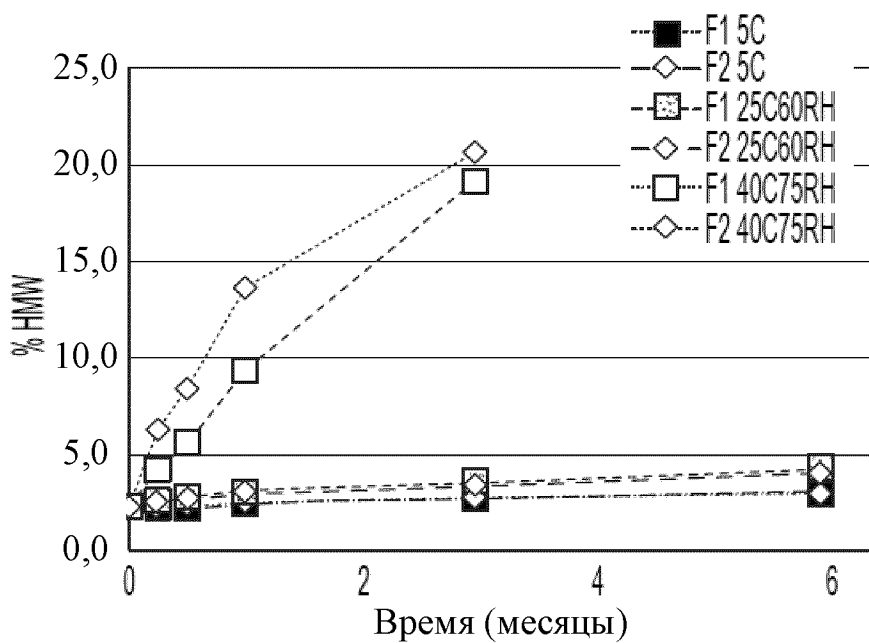
ФИГ. 4



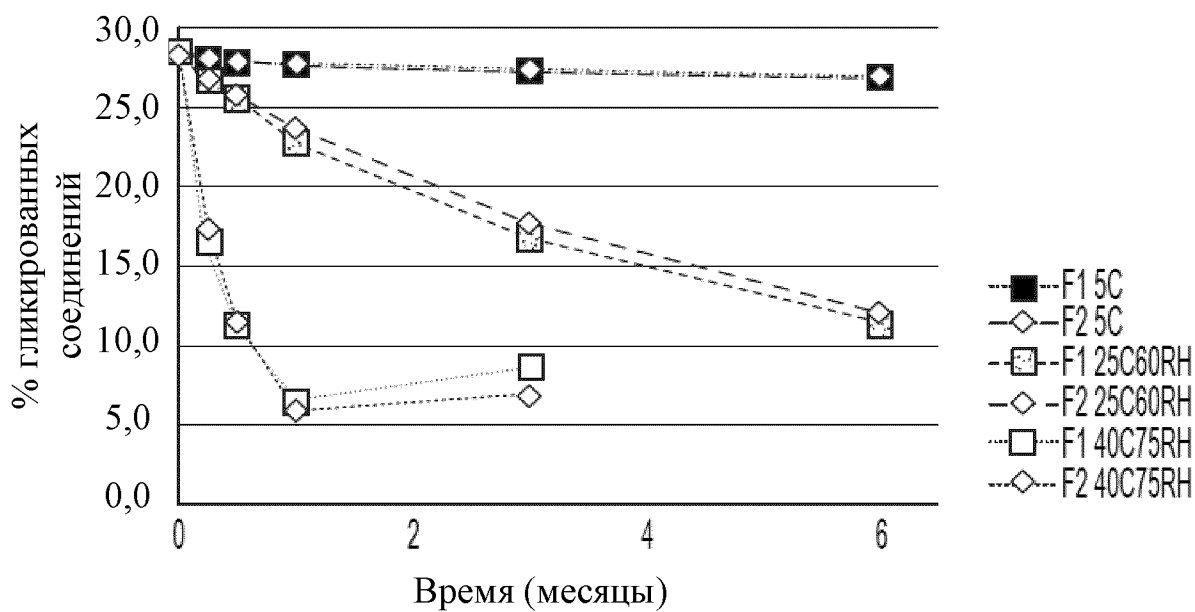
ФИГ. 5



ФИГ. 6



ФИГ. 7А



ФИГ. 7В