

(19)



Евразийское  
патентное  
ведомство

(21) 202491168 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки  
2024.09.09

(51) Int. Cl. C07K 16/28 (2006.01)  
A61P 35/00 (2006.01)  
A61K 39/395 (2006.01)

(22) Дата подачи заявки  
2022.11.09

(54) СТАБИЛЬНЫЕ СОСТАВЫ, СОДЕРЖАЩИЕ БИСПЕЦИФИЧЕСКОЕ АНТИТЕЛО К ВСМА/CD3

(31) 63/277,885

(72) Изобретатель:

(32) 2021.11.10

Музаммил Салман, Мистилис

(33) US

Мэттью Джозеф, Чоудхари Шьямал  
(US)

(86) PCT/US2022/079535

(87) WO 2023/086817 2023.05.19

(74) Представитель:

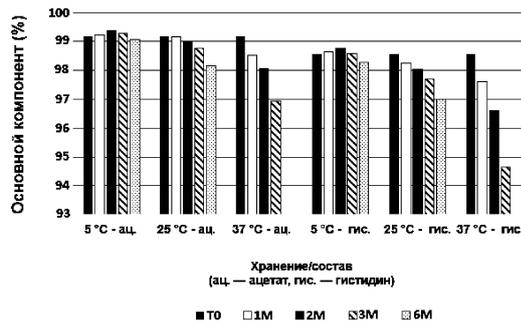
(71) Заявитель:

ЯНССЕН БАЙОТЕК, ИНК. (US)

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

(57) В настоящем документе предложены стабильные водные фармацевтические композиции, содержащие составы биспецифического антитела к ВСМА/CD3 или его антигенсвязывающего фрагмента, и способы их получения. Также в настоящем документе предложены способы лечения рака у субъекта, нуждающегося в этом, посредством введения субъекту стабильных водных фармацевтических композиций, описанных в настоящем документе. Дополнительно в настоящем документе предложены наборы и изделия, содержащие сабильные водные фармацевтические композиции, описанные в настоящем документе.

Данные эВЭЖХ



A1

202491168

202491168

A1

## СТАБИЛЬНЫЕ СОСТАВЫ, СОДЕРЖАЩИЕ БИСПЕЦИФИЧЕСКОЕ АНТИТЕЛО К ВСМА/CD3

5

### ПЕРЕКРЕСТНАЯ ССЫЛКА НА РОДСТВЕННЫЕ ЗАЯВКИ

**[0001]** Настоящая заявка истребует приоритет предварительной заявки за регистрационным № 63/277,885, поданной 10 ноября 2021 г., которая полностью включена в настоящий документ путем ссылки.

10

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

**[0002]** Данная заявка содержит перечень последовательностей, представленный в электронном виде в формате XML и в полном объеме включенный в настоящий документ путем ссылки. Копия указанного перечня в формате XML, созданная 08 ноября 2022 г., называется 258199.061002\_PRD4191WOPCT1\_SL.xml и имеет размер 22,6 килобайта.

15

### ОБЛАСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ ИЗОБРЕТЕНИЯ

**[0003]** Описаны композиции и способы составления стабильной фармацевтической композиции, содержащей биспецифические антитела к ВСМА/CD3.

20

### ПРЕДПОСЫЛКИ СОЗДАНИЯ ИЗОБРЕТЕНИЯ

**[0004]** Антиген созревания В-клеток (ВСМА), также известный как CD269 и член 17 суперсемейства рецепторов фактора некроза опухолей (TNF), представляет собой рецептор, который играет критически важную роль в созревании В-лимфоцитов (В-клеток) и последующей дифференциации в плазматические клетки. ВСМА связывается с 2 лигандами: связывающий пролиферацию лиганд (APRIL; CD256) и BAFF. APRIL и BAFF представляют собой трансмембранные белки типа II, которые легко расщепляются фурином и секретируются в виде растворимых тримеров с помощью многих клеток (В-клеток [аутокрин], моноцитов, дендритных клеток, Т-клеток, остеокластов и т. д.) и могут связываться с рецептором ВСМА. В отличие от других поверхностных маркеров ВСМА экспрессируется исключительно в клетках В-линии и избирательно индуцируется во время дифференциации плазматических клеток.

25

30

**[0005]** Рецептор ВСМА человека представляет собой 184-аминокислотный белок, который не имеет ни секреторную сигнальную последовательность, ни какой-либо специфический сайт расщепления протеазы в N-концевом внеклеточном домене 54 аминокислот. Однако N-концевой фрагмент наблюдается в виде растворимого белка в сыворотке в результате активности гамма-секретазы, которая расщепляет белок ВСМА в трансмембранном домене. Ингибирование обработки гамма-секретазы приводит к значительному увеличению поверхностного белка ВСМА в первичных В-клетках человека. Высокие уровни растворимого ВСМА (sBCMA) измеряли в образцах сыворотки пациентов с множественной миеломой (данные не показаны) и коррелировали с количествами плазматических клеток.

**[0006]** мРНК и белок ВСМА были повсеместно обнаружены в клеточных линиях множественной миеломы (ММ) и во всех злокачественных плазматических клетках у пациентов с множественной миеломой заявителями (данные не показаны) и другими лицами. Аналогично в клеточных линиях множественной миеломы и образцах пациентов ВСМА экспрессируется более стабильно по сравнению с ключевым маркером плазматических клеток (CD138), который также экспрессируется на нормальных фибробластах и эпителиальных клетках. Экспрессия ВСМА является селективной для линии В-клеток и не была обнаружена в каких-либо основных тканях, за исключением инфильтрирующих плазматических клеток, как определено с помощью иммуногистохимических (ИНС) способов. В совокупности селективная экспрессия ВСМА на линии В-клеток делает ее привлекательной мишенью для терапии, опосредованной Т-клетками, для лечения расстройств плазматических клеток, таких как множественная миелома.

**[0007]** Уничтожение перенаправленными Т-клетками является желаемым механизмом действия во многих терапевтических областях. Как правило, молекулы, перенаправляющие Т-клетки, конструируют так, чтобы они имели по меньшей мере два антигенсвязывающих сайта, причем один сайт связывается с поверхностным антигеном клетки-мишени, а другой сайт связывается с поверхностным антигеном Т-клетки. Среди поверхностных антигенов Т-клеток для уничтожения перенаправленными Т-клетками в качестве мишени наиболее часто используется эpsilon-субъединица человеческого CD3 из белкового комплекса TCR. Как в доклинических, так и в клинических исследованиях было показано, что перенаправление Т-клеток опосредуют различные форматы биспецифических антител.

**[0008]** Роль как ВСМА, так и CD3 при раке хорошо известна, что делает эти мишени привлекательными для комбинированной терапии. Применение антител к ВСМА для лечения лимфом и множественной миеломы упоминается в WO2002066516 и WO2010104949. Антитела к ВСМА описаны, например, в публикации Gras M-P. et al. Int Immunol. 1997;7:1093–1106, WO200124811 и WO200124812. Биспецифические антитела к ВСМА и CD3 описаны, например, в WO2017/031104.

**[0009]** Несмотря на то, что антитела к ВСМА/CD3 продемонстрировали многообещающие результаты, в данной области сохраняется потребность в фармацевтических композициях, содержащих такие антитела, которые стабильны в течение длительных периодов времени при температурах охлаждения (2–8 °C) и окружающей среды.

### ИЗЛОЖЕНИЕ СУЩНОСТИ ИЗОБРЕТЕНИЯ

**[0010]** В настоящем документе описаны стабильные водные фармацевтические композиции, содержащие определенные составы биспецифического антитела к антигену созревания В-клеток (ВСМА) / кластеру дифференцировки 3 (CD3).

**[0011]** В одном аспекте в данном документе предложены стабильные водные фармацевтические композиции, содержащие:

(а) концентрацию от около 7,5 мг/мл до около 12,5 мг/мл биспецифического антитела к антигену созревания В-клеток (ВСМА) / кластеру дифференцировки 3 (CD3) или его антигенсвязывающего фрагмента, при этом биспецифическое антитело к ВСМА/CD3 или его антигенсвязывающий фрагмент содержит:

- (1) первую тяжелую цепь (HC1), содержащую переменную область 1 (VH1) HC1, причем VH1 содержит определяющую комплементарность область 1 тяжелой цепи (HCDR1), HCDR2 и HCDR3, имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 1, 2 и 3 соответственно;
- (2) первую легкую цепь (LC1), содержащую переменную область (VL1) LC1, причем VL1 содержит определяющую комплементарность область 1 легкой цепи (LCDR1), LCDR2 и LCDR3, имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 4, 5 и 6 соответственно;
- (3) вторую тяжелую цепь (HC2), содержащую переменную область 2 (VH2) HC2,

причем VH2 содержит определяющую комплементарность область 1 тяжелой цепи (HCDR1), HCDR2 и HCDR3, имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 11, 12 и 13 соответственно; и

(4) вторую легкую цепь (LC2), содержащую вариабельную область 2 (VL2) LC2,

причем VL2 содержит определяющую комплементарность область 1 легкой цепи (LCDR1), LCDR2 и LCDR3, имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 14, 15 и 16 соответственно;

(b) от около 10 мМ до около 20 мМ ацетата и/или фармацевтически приемлемой ацетатной соли;

(c) от около 6% (масс./об.) до около 10% (масс./об.) сахарозы;

(d) от около 16 мкг/мл до около 24 мкг/мл этилендиаминтетрауксусной кислоты (EDTA);

(e) от около 0,01% до около 0,07% полисорбата 20; и

(f) pH от около 4,7 до около 5,7.

**[0012]** В одном аспекте в данном документе предложены стабильные водные фармацевтические композиции, содержащие:

(a) концентрацию от около 76,5 мг/мл до около 103,5 мг/мл биспецифического антитела к антигену созревания В-клеток (BCMA) / кластеру дифференцировки 3 (CD3) или его антигенсвязывающего фрагмента, при этом биспецифическое антитело к BCMA/CD3 или его антигенсвязывающий фрагмент содержит:

(1) первую тяжелую цепь (HC1), содержащую вариабельную область 1 (VH1) HC1,

причем VH1 содержит определяющую комплементарность область 1 тяжелой цепи (HCDR1), HCDR2 и HCDR3, имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 1, 2 и 3 соответственно;

(2) первую легкую цепь (LC1), содержащую вариабельную область (VL1) LC1,

причем VL1 содержит определяющую комплементарность область 1 легкой цепи (LCDR1), LCDR2 и LCDR3, имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 4, 5 и 6 соответственно;

(3) вторую тяжелую цепь (HC2), содержащую вариабельную область 2 (VH2) HC2,

причем VH2 содержит определяющую комплементарность область 1 тяжелой цепи (HCDR1), HCDR2 и HCDR3, имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 11, 12 и 13 соответственно; и

(4) вторую легкую цепь (LC2), содержащую вариабельную область 2 (VL2) LC2,

причем VL2 содержит определяющую комплементарность область 1 легкой цепи (LCDR1), LCDR2 и LCDR3, имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 14, 15 и 16 соответственно;

(b) от около 10 мМ до около 20 мМ ацетата и/или фармацевтически приемлемой ацетатной соли;

(c) от около 6% (масс./об.) до около 10% (масс./об.) сахарозы;

(d) от около 16 мкг/мл до около 24 мкг/мл этилендиаминтетрауксусной кислоты (EDTA);

(e) от около 0,01% до около 0,07% полисорбата 20; и

(f) pH от около 4,7 до около 5,7.

**[0013]** В настоящем документе также представлены способы лечения рака у субъекта, нуждающегося в этом. Способы включают введение субъекту стабильных водных фармацевтических композиций, как описано в настоящем документе.

**[0014]** Также предложены способы получения стабильных водных композиций биспецифического антитела к антигену созревания В-клеток (BCMA) / кластеру дифференцировки 3 (CD3) или его антигенсвязывающего фрагмента. Биспецифическое антитело к BCMA/CD3 или его антигенсвязывающий фрагмент может, например, содержать:

(1) первую тяжелую цепь (HC1), содержащую вариабельную область 1 (VH1) HC1,

причем VH1 содержит определяющую комплементарность область 1 тяжелой цепи (HCDR1), HCDR2 и HCDR3, имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 1, 2 и 3 соответственно;

(2) первую легкую цепь (LC1), содержащую вариабельную область (VL1) LC1,

причем VL1 содержит определяющую комплементарность область 1 легкой цепи (LCDR1), LCDR2 и LCDR3, имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 4, 5 и 6 соответственно;

- (3) вторую тяжелую цепь (HC2), содержащую переменную область 2 (VH2) HC2, причем VH2 содержит определяющую комплементарность область 1 тяжелой цепи (HCDR1), HCDR2 и HCDR3, имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 11, 12 и 13 соответственно; и
- (4) вторую легкую цепь (LC2), содержащую переменную область 2 (VL2) LC2, причем VL2 содержит определяющую комплементарность область 1 легкой цепи (LCDR1), LCDR2 и LCDR3, имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 14, 15 и 16 соответственно;

Способы могут, например, включать объединение композиции, содержащей около 10 мг/мл или около 90 мг/мл биспецифического антитела к ВСМА/CD3, около 15 мМ ацетата и/или фармацевтически приемлемой ацетатной соли, около 8% (масс./об.) сахарозы, около 20 мг/мл EDTA и около 0,04% полисорбата (PS) 20, причем стабильная водная фармацевтическая композиция имеет pH около 5,2.

**[0015]** Также в настоящем документе предложены наборы, содержащие стабильные фармацевтические водные композиции, описанные в настоящем документе, и инструкции по их применению.

**[0016]** Дополнительно предложены изделия, содержащие контейнер со стабильными водными фармацевтическими композициями, описанными в настоящем документе.

#### КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ФИГУР

**[0017]** Приведенное выше краткое описание, а также приведенное ниже подробное описание предпочтительных вариантов осуществления настоящего изобретения будут более понятны при изучении вместе с приложенными графическими материалами. Однако необходимо понимать, что применение не ограничено точными вариантами осуществления, показанными на графических материалах.

**[0018]** На ФИГ. 1 показан график, демонстрирующий чистоту составов теклистамаба ацетата и гистидинового буфера, определенную методом эксклюзионной высокоэффективной жидкостной хроматографии (эВЭЖХ).

#### ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

**[0019]** Описанные композиции и способы будут более понятны со ссылкой на приведенное ниже подробное описание в сочетании с прилагаемыми фигурами,

которые являются частью настоящего описания. Следует понимать, что описанные композиции и способы не ограничены конкретными композициями и способами, описанными и/или показанными в настоящем документе, и что терминология, используемая в настоящем документе, имеет своей целью описание определенных вариантов осуществления исключительно в качестве примера и не подразумевает ограничения в отношении заявленных композиций и способов.

**[0020]** Если конкретно не указано иное, любое описание, относящееся к возможному механизму, или способу действия, или причине улучшения, понимают лишь как иллюстративное, и не предусмотрено ограничение описанных композиций и способов корректностью или некорректностью любого такого предполагаемого механизма, или способа действия, или причины улучшения.

**[0021]** Когда в настоящем документе оговорен или задан диапазон числовых значений, диапазон включает в себя свои конечные точки и все попадающие в него отдельные целые и дробные значения, а также включает в себя каждый из меньших входящих в него диапазонов, образованных всеми различными возможными комбинациями их конечных точек и попадающими внутрь их целых и дробных значений, которые образуют подгруппы большей группы значений в пределах указанного диапазона, в той же мере, как и в случае явного задания каждого из подобных меньших диапазонов. Когда в настоящем документе диапазон числовых значений задан как больший заданной величины, указанный диапазон тем не менее конечен и ограничен на своем верхнем конце некоторой величиной, которая возможна в контексте описанного в настоящем документе изобретения. Когда в настоящем документе диапазон числовых значений задан как меньший по сравнению с заданной величиной, указанный диапазон тем не менее ограничен на своем нижнем конце некоторой ненулевой величиной. Предполагается, что объем изобретения не будет ограничен конкретными значениями, перечисленными при определении диапазона значений. Все диапазоны являются включающими и комбинируемыми.

**[0022]** Когда значения указаны как приблизительные с использованием предшествующего слова «около», следует понимать, что конкретное значение образует другой вариант осуществления. Ссылка на то или иное конкретное численное значение включает по меньшей мере это конкретное значение, если только контекстом четко не предусмотрено иное.

**[0023]** Следует понимать, что некоторые признаки раскрытых композиций и способов, которые для ясности описаны в настоящем документе в контексте отдельных

вариантов осуществления, могут быть также представлены в комбинации в одном варианте осуществления. И наоборот, различные признаки раскрытых композиций и способов, которые для краткости описаны в контексте одного варианта осуществления, могут быть также представлены отдельно или в любой подкомбинации.

5 **[0024]** Используемые в настоящем документе формы единственного числа включают в себя и множественное число.

**[0025]** В настоящем описании и формуле изобретения используют различные термины, относящиеся к аспектам настоящего описания. Такие термины должны иметь обычное для них значение в данной области техники, если не указано иное. Другие  
10 конкретно определенные термины следует толковать согласно приведенным в настоящем документе определениям.

**[0026]** Термин «около», используемый в настоящем документе в отношении числовых диапазонов, пороговых или конкретных значений, используется для обозначения того, что перечисленные значения могут варьировать вплоть до 10% от  
15 указанного значения. Поскольку многие числовые значения, используемые в настоящем документе, определяются экспериментально, специалисты в данной области должны понимать, что такие определения могут, и часто будут, варьировать в различных экспериментах. Используемые в настоящем документе значения не следует считать чрезмерно ограничивающими в силу этой присущей им вариативности. Таким  
20 образом, термин «около» используется для охвата вариаций  $\pm 10\%$  или менее, вариаций  $\pm 5\%$  или менее, вариаций  $\pm 1\%$  или менее, вариаций  $\pm 0,5\%$  или менее или вариаций  $\pm 0,1\%$  или менее от указанного значения.

**[0027]** Предполагается, что термин «содержащий» включает в себя примеры, которые охватываются терминами «состоящий по существу из» и «состоящий из»; аналогичным  
25 образом предполагается, что термин «состоящий по существу из» включает в себя примеры, которые охватываются термином «состоящий из». Если из контекста явно не следует иное, в данном описании и формуле изобретения слова «включать», «включающий» и т. п. следует толковать в охватывающем смысле, в отличие от исключающего или исчерпывающего смысла; то есть в смысле «включая, без  
30 ограничений».

**[0028]** Термин «антитело» и подобные термины понимаются в широком смысле и включают в себя молекулы иммуноглобулинов или их фрагменты, включая моноклональные антитела (такие как мышинные, человеческие, адаптированные для человека, гуманизированные и химерные моноклональные антитела), фрагменты

антител, биспецифические или мультиспецифические антитела, димерные, тетрамерные или мультимерные антитела и одноцепочечные антитела.

**[0029]** Иммуноглобулины можно отнести к пяти основным классам, а именно IgA, IgD, IgE, IgG и IgM, в зависимости от аминокислотной последовательности

5 константного домена тяжелой цепи. IgA и IgG дополнительно подразделяют на изотипы IgA1, IgA2, IgG1, IgG2, IgG3 и IgG4. Легкие цепи антител любых видов позвоночных можно относить в зависимости от аминокислотных последовательностей их константных доменов к одному из двух четко отличающихся типов, а именно каппа (κ) и лямбда (λ).

10 **[0030]** Термин «фрагмент антитела» относится к части молекулы иммуноглобулина, которая сохраняет антигенсвязывающие свойства родительского полноразмерного антитела. Примерами фрагментов антител служат определяющие комплементарность области тяжелой цепи (HCDR) 1, 2 и 3; определяющие комплементарность области легкой цепи (LCDR) 1, 2 и 3; переменная область тяжелой цепи (VH) или

15 переменная область легкой цепи (VL). Фрагменты антител включают в себя: фрагмент Fab — моновалентный фрагмент, состоящий из VL, VH, константного легкого (CL) и константного тяжелого 1 (CH1) доменов; фрагмент F(ab)<sub>2</sub> — бивалентный фрагмент, содержащий два фрагмента Fab, связанных дисульфидным мостиком в шарнирной области; фрагмент Fd, состоящий из доменов VH и CH1; фрагмент Fv, состоящий из доменов VL и VH одного плеча антитела; и фрагмент доменного антитела (dAb) (Ward *et al.*, Nature 341:544–546, 1989), который состоит из домена VH. Домены VH и VL могут быть сконструированы и связаны вместе посредством синтетического линкера с образованием различных типов конфигураций одноцепочечных антител, в которых домены VH/VL соединяются в пару

20 внутримолекулярно или межмолекулярно в тех случаях, когда домены VH и VL экспрессируются отдельными конструктами одноцепочечными антител, с образованием моновалентного антигенсвязывающего сайта, такого как

одноцепочечный Fv (scFv) или диатело; они описаны, например, в международных патентных публикациях № WO1998/44001, WO1988/01649, WO1994/13804 и

30 WO1992/01047. Эти фрагменты антител получают с помощью методик, хорошо известных специалистам в данной области, и скрининг фрагментов на пригодность проводят таким же образом, как и для полноразмерных антител.

**[0031]** Переменная область антитела состоит из «каркасной» области, разделенной тремя «антигенсвязывающими сайтами». Антигенсвязывающие сайты определены с

помощью различных терминов: (i) определяющие комплементарность области (CDR), три в VH (HCDR1, HCDR2, HCDR3) и три в VL (LCDR1, LCDR2, LCDR3), основаны на вариабельности последовательности (Wu and Kabat, J Exp Med 132:211–50, 1970; Kabat et al. Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md., 1991); и (ii) «гипервариабельные области» (HVR или HV), три в VH (H1, H2, H3) и три в VL (L1, L2, L3), относятся к областям вариабельных доменов антитела, которые являются по своей структуре гипервариабельными, согласно определению Chothia и Lesk (Chothia and Lesk, Mol. Biol 196:901–17, 1987). Другие термины включают в себя IMGT-CDR (Lefranc *et al.*, Dev Comparat Immunol 27:55–77, 2003) и «использование остатков, определяющих специфичность» (SDRU) (Almagro Mol Recognit 17:132–43, 2004). В международной базе данных ImMunoGeneTics (IMGT) ([www\\_imgt\\_org](http://www.imgt.org)) представлены стандартизированная нумерация и определение антигенсвязывающих сайтов. Соответствие между разграничениями CDR, HV и IMGT описано в Lefranc *et al.*, Dev Comparat Immunol 27:55–77, 2003.

**[0032]** Термин «моноклональное антитело» относится к препарату молекул антитела одномолекулярной композиции. Композиция моноклонального антитела отображает одинарную специфичность связывания и аффинность к конкретному эпитопу или в случае биспецифического моноклонального антитела двойную специфичность связывания к двум отдельным эпитопам. Следовательно, «моноклональное антитело» относится к популяции антител с одинаковым аминокислотным составом в каждой тяжелой и каждой легкой цепи, за исключением возможных хорошо известных изменений, таких как удаление С-концевого лизина в тяжелой цепи антитела. В пределах популяции антител моноклональные антитела могут иметь гетерогенное гликозилирование. Моноклональное антитело может быть моноспецифическим или мультиспецифическим, или моновалентным, бивалентным или мультивалентным. Биспецифическое антитело включено в термин «моноклональное антитело».

**[0033]** Термин «биспецифический» относится к антителу, которое специфически связывает два разных антигена или два разных эпитопа в пределах одного антигена. Биспецифическое антитело может иметь перекрестную реактивность с другими родственными антигенами, например таким же антигеном от других видов (гомологов), таких как человек или обезьяна, например *Macaca cynomolgus* (яванский макак, крабоед) или *Pan troglodytes*, или может связывать эпитоп, который имеется в двух или более разных антигенах.

**[0034]** Термин «человеческое антитело» относится к антителу, которое оптимизировано для обеспечения минимального иммунного ответа при введении человеческому индивиду. Вариабельные области человеческого антитела получают из последовательностей иммуноглобулинов человека. Если антитело содержит константную область или часть константной области, константную область также получают из последовательностей иммуноглобулинов человека. Человеческое антитело содержит вариабельные области тяжелой и легкой цепей, которые «получены из» последовательностей человеческого происхождения, если вариабельные области человеческого антитела получены из системы, в которой используют иммуноглобулин зародышевой линии человека или перестроенные гены иммуноглобулина. Такими примерами систем являются библиотеки генов человеческих иммуноглобулинов, отображаемых на фаге, и трансгенные животные, отличные от человека, такие как мыши или крысы, несущие локусы человеческих иммуноглобулинов. «Человеческое антитело», как правило, содержит аминокислотные отличия по сравнению с иммуноглобулинами, экспрессируемыми у людей, из-за различий между системами, используемыми для получения человеческих антител и локусов человеческих иммуноглобулинов, внедрения соматических мутаций, намеренного введения замен в каркасные участки или CDR или и то и другое. Как правило, «человеческое антитело» по аминокислотной последовательности на по меньшей мере около 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентично аминокислотной последовательности, кодируемой генами иммуноглобулина зародышевой линии человека или перестроенными генами иммуноглобулина. В некоторых случаях «человеческое антитело» может включать консенсусные каркасные последовательности, полученные в результате анализов человеческих каркасных последовательностей, например, как описано в Knappik et al., (2000) *J Mol Biol* 296:57–86, или синтетическую HCDR3, включенную в библиотеки генов человеческих иммуноглобулинов, отображаемых на фаге, например, как описано в публикации Shi et al., (2010) *J Mol Biol* 397:385–96 и международной публ. пат. № WO2009/085462. Антитела, в которых по меньшей мере одна CDR получена от видов, отличных от человека, не подходят под определение «человеческого антитела».

**[0035]** Термин «гуманизированное антитело» относится к антителу, в котором по меньшей мере одна CDR получена из биологического вида, отличного от человека, а по меньшей мере один каркас получен из последовательностей человеческого иммуноглобулина. Гуманизированное антитело может включать в себя замены в

каркасных областях, в результате чего каркасы могут не быть точной копией экспрессированного человеческого иммуноглобулина или генных последовательностей зародышевой линии человеческого иммуноглобулина.

**[0036]** Термин «выделенный» относится к однородной популяции молекул (таких как синтетические полинуклеотиды или белок, такой как антитело), которые были по существу отделены и/или очищены от других компонентов той системы, в которой данные молекулы формировались, такой как рекомбинантная клетка, а также к белку, который был подвергнут по меньшей мере одной стадии очистки или выделения.

Термин «выделенное антитело» относится к антителу, которое по существу не содержит иных клеточных материалов и/или химических веществ, и охватывает антитела, которые выделены с более высокой чистотой, такой как 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или с чистотой 100%.

**[0037]** Термин «биспецифическое антитело к ВСМА/CD3» относится к биспецифическому антителу, которое специфически связывает ВСМА и CD3. Биспецифические антитела к ВСМА/CD3 описаны в патенте США № 10,072,088, который полностью включен в настоящий документ путем ссылки.

**[0038]** Термин «ВСМА» относится к антигену созревания В-клеток человека, также известному как CD269 или TNFRSF17 (UniProt Q02223). Внеклеточный домен ВСМА охватывает остатки 1–54 последовательности Q02223. ВСМА человека содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 21.

MLQMAGQCSQNEYFDSLLHACIPCQLRCSSNTPPLTCQRYCNASVTNSVKGT  
 NAILWTCLGLSLIISLAVFVLMFLLRKINSEPLKDEFKNTGSGLLGMANIDLEK  
 SRTGDEIILPRGLEYTVEECTCEDCIKSKPKVDSDFCFPLPAMEEGATILVTTKT  
 NDYCKSLPAALSATEIEKSISAR (SEQ ID NO: 21)

**[0039]** Термин «CD3» относится к человеческому антигену, который экспрессируется на Т-клетках в составе мультимолекулярного комплекса Т-клеточного рецептора (TCR) и который состоит из гомодимера или гетеродимера, образованного в результате ассоциации двух или четырех цепей рецептора: CD3-эпсилон, CD3-дельта, CD3-дзета и CD3-гамма. CD3-эпсилон человека содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 22. SEQ ID NO: 23 демонстрирует внеклеточный домен CD3-эпсилон.

MQSGTHWRVLGLCLLSVGVWGQDGNEEMGGITQTPYKVSISGTTVILTCPQY  
 PGSEILWQHNDKNIGGDEDDKNIGSDEDHLSLKEFSELEQSGYYVCYPRGSKP  
 EDANFYLYLRARVCENCMEMDVMSVATIVIVDICITGGLLLLVEYYWSKNRKA  
 KAKPVTRGAGAGGRQRGQNKERPPPVPNPDYEPYRKGQRDLYSGLNQRRR  
 (SEQ ID NO: 22)

5

DGNEEMGGITQTPYKVSISGTTVILTCPQYPGSEILWQHNDKNIGGDEDDKNIG  
 SDEDHLSLKEFSELEQSGYYVCYPRGSKPEDANFYLYLRARVCENCMEMD  
 (SEQ ID NO: 23)

10

**[0040]** Термин «эпитоп» относится к части антигена, с которой специфически связывается антитело. Как правило, эпитопы состоят из химически активных (таких как полярные, неполярные или гидрофобные) поверхностных группировок фрагментов, таких как боковые цепи аминокислот или полисахаридов, и могут иметь конкретные характеристики трехмерной структуры, а также конкретные характеристики заряда. Эпитоп может быть образован из смежных и/или несмежных аминокислот, формирующих конформационный пространственный блок. В случае прерывающегося эпитопа аминокислоты из разных частей линейной последовательности антигена подходят близко друг к другу в 3-мерном пространстве посредством сворачивания молекулы белка.

15

20

**[0041]** Термин «вариант» относится к полипептиду или полинуклеотиду, который отличается от эталонного полипептида или эталонного полинуклеотида одной или более модификациями, например заменами, вставками или делециями.

25

**[0042]** Выражение «в комбинации с» означает, что два или более терапевтических средства могут быть введены субъекту вместе в смеси, одновременно в виде отдельных агентов или последовательно в виде отдельных агентов в любом порядке.

30

**[0043]** Термины «лечить», «лечение» и подобные термины относятся как к терапевтическому лечению, так и к профилактическим или превентивным мерам и включают в себя уменьшение тяжести и/или частоты симптомов, устранение симптомов и/или первопричины симптомов, снижение частоты или вероятности симптомов и/или их первопричины, нормализацию или устранение повреждений, вызванных, прямо или косвенно, злокачественной опухолью. Лечение также включает продление выживаемости по сравнению с ожидаемой выживаемостью субъекта, не получающего лечения. Подлежащие лечению субъекты включают тех, которые имеют

состояние или расстройство, а также тех, которые имеют предрасположенность к развитию состояния или расстройства, или тех, у которых такое состояние или расстройство необходимо предотвратить.

**[0044]** Термин «терапевтически эффективное количество» относится к количеству

5 описанной композиции, которое является терапевтически эффективным в дозировках и в течение периодов времени, необходимых для достижения требуемого эффекта лечения. Терапевтически эффективное количество может варьировать в зависимости от таких факторов, как состояние заболевания, возраст, пол и масса тела субъекта, и от способности комбинированной терапии вызывать требуемый ответ у субъекта.

10 Примеры показателей терапевтически эффективного количества включают, например, улучшение самочувствия пациента, снижение опухолевой нагрузки, остановку или замедление роста опухоли и/или отсутствие метастазирования раковых клеток в другие участки тела.

**[0045]** Термин «фармацевтическая композиция» относится к композиции, которая

15 содержит активный ингредиент и фармацевтически приемлемый носитель.

**[0046]** Термин «фармацевтически приемлемый носитель» или «эксципиент» относится к ингредиенту в фармацевтической композиции, за исключением активного ингредиента, который нетоксичен для субъекта.

**[0047]** Термин «рак», используемый в настоящем документе, определяется как

20 заболевание, характеризующееся быстрым и неконтролируемым ростом аномальных клеток. Раковые клетки могут распространяться локально или через кровотоки и лимфатическую систему в другие части тела. В определенных вариантах

осуществления рак представляет собой гематологическую злокачественную опухоль

или солидную опухоль. В некоторых вариантах осуществления гематологическая

25 злокачественная опухоль представляет собой множественную миелому, вялотекущую множественную миелому, моноклональную гаммапатию неясного генеза (MGUS),

острый лимфобластный лейкоз (ALL), диффузную В-крупноклеточную лимфому

(DLBCL), лимфому Беркитта (BL), фолликулярную лимфому (FL), мантийноклеточную

лимфому (MCL), макроглобулинемию Вальденстрема, плазмочитарный лейкоз,

30 амилоидоз легкой цепи (AL), В-клеточный лимфобластный лейкоз из клеток-

предшественников, В-клеточный лимфобластный лейкоз из клеток-предшественников,

острый миелоидный лейкоз (AML), миелодиспластический синдром (MDS),

хронический лимфоцитарный лейкоз (CLL), злокачественную В-клеточную опухоль,

хронический миелоидный лейкоз (CML), лейкоз ворсистых клеток (HCL), бластную

плазмцитоидную дендритноклеточную опухоль, лимфому Ходжкина, неходжкинскую лимфому, В-клеточную лимфому маргинальной зоны (MZL), лимфому лимфоидной ткани, ассоциированной со слизистыми оболочками (MALT), плазмклеточный лейкоз, анапластическую крупноклеточную лимфому (ALCL), лейкоз или лимфому.

5 **[0048]** Термин «опухолевая клетка» или «раковая клетка» относится к раковой, предраковой или трансформированной клетке, либо *in vivo*, либо *ex vivo*, либо в культуре тканей, которая имеет спонтанные или индуцированные фенотипические изменения. Эти изменения не обязательно затрагивают поступление нового генетического материала. Хотя трансформация может быть вызвана инфекцией трансформирующим вирусом и встраиванием новой геномной нуклеиновой кислоты, 10 поглощением экзогенной нуклеиновой кислоты или она также может возникать спонтанно или после воздействия канцерогена, в результате чего происходит мутация эндогенного гена. Трансформация/рак проявляются в морфологических изменениях, иммортализации клеток, нарушении контроля роста, образовании очагов, 15 пролиферации, злокачественности, модулировании уровней маркера, специфичных для опухоли, инвазивности, росте опухоли у приемлемых животных-хозяев, таких как бестимусные мыши и т. п., *in vitro*, *in vivo* и *ex vivo*.

**[0049]** Термин «перенаправляющее Т-клетки терапевтическое средство» относится к молекуле, включающей две или более связывающих области, причем одна из 20 связывающих областей специфически связывает антиген клеточной поверхности на клетке-мишени или ткани, и при этом вторая связывающая область молекулы специфически связывает Т-клеточный антиген. Примеры антигена клеточной поверхности включают в себя опухолеассоциированный антиген, такой как ВСМА. Примеры Т-клеточного антигена включают в себя, например, CD3. Такая способность 25 связываться с двумя или множеством мишеней рекрутирует Т-клетки к клетке-мишени или ткани, что приводит к уничтожению клетки-мишени или ткани.

**[0050]** Термин «субъект» включает в себя любого человека или не относящееся к человеку животное. Термин «не относящееся к человеку животное» включает в себя 30 всех позвоночных, например млекопитающих и немлекопитающих, таких как приматы, овцы, собаки, кошки, лошади, коровы, куры, амфибии, рептилии и т. д. Термины «субъект» и «пациент» в настоящем документе могут применяться взаимозаменяемо.

**[0051] Описание**

**[0052]** Нумерация аминокислотных остатков в константной области антитела в тексте описания приведена в соответствии с EU-индексом, как описано в Kabat et al.,

Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD. (1991), если явно не указано иное. Нумерация константной цепи антитела приведена, например, на веб-сайте ImMunoGeneTics, на веб-ресурсах IMGT на диаграммах IMGT Scientific.

- 5 **[0053]** В настоящем документе применяются традиционные одно- и трехбуквенные коды обозначения аминокислот, как показано в таблице 1.

**Таблица 1**

Аминокислота	Трехбуквенный код	Однобуквенный код
Аланин	Ala	A
Аргинин	Arg	R
Аспарагин	Asn	N
Аспарат	Asp	D
Цистеин	Cys	C
Глутамат	Gln	E
Глутамин	Glu	Q
Глицин	Gly	G
Гистидин	His	H
Изолейцин	Ile	I
Лейцин	Leu	L
Лизин	Lys	K
Метионин	Met	M
Фенилаланин	Phe	F
Пролин	Pro	P
Серин	Ser	S
Треонин	Thr	T
Триптофан	Trp	W
Тирозин	Tyr	Y
Валин	Val	V

**[0054] Биспецифические антитела к ВСМАхCD3 и их применение**

- 10 **[0055]** Изобретение основано, по меньшей мере частично, на обнаружении того, что терапевтический агент теклистамаб, биспецифическое антитело к ВСМА/CD3, может быть применен для лечения множественной миеломы у субъектов с рецидивом или рефрактерностью к лечению предшествующей противораковой терапией.

- 15 **[0056]** Антиген созревания В-клеток (ВСМА) представляет собой связанный с клеточной мембраной член семейства рецепторов фактора некроза опухоли, участвующий в дифференциации В-клеток в плазматические клетки. Экспрессия ВСМА ограничена В-клеточной линией дифференциации, в которой он

преимущественно экспрессируется в межфолликулярной области зародышевых центров и на дифференцированных плазматических клетках и плазмобластах. ВСМА практически отсутствует на наивных В-клетках и В-клетках памяти (Tai and Anderson, Immunotherapy 7: 1187-99, 2015).

5 **[0057]** Таким образом, в настоящем документе описаны стабильные водные фармацевтические композиции, содержащие биспецифическое антитело к ВСМА/CD3.

**[0058]** В одном аспекте в данном документе предложены стабильные водные фармацевтические композиции, содержащие:

10 (а) концентрацию от около 7,5 мг/мл до около 12,5 мг/мл биспецифического антитела к антигену созревания В-клеток (ВСМА) / кластеру дифференцировки 3 (CD3) или его антигенсвязывающего фрагмента, при этом биспецифическое антитело к ВСМА/CD3 или его антигенсвязывающий фрагмент содержит:

(1) первую тяжелую цепь (HC1), содержащую вариабельную область 1 (VH1) HC1,

15 причем VH1 содержит определяющую комплементарность область 1 тяжелой цепи (HCDR1), HCDR2 и HCDR3, имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 1, 2 и 3 соответственно;

(2) первую легкую цепь (LC1), содержащую вариабельную область (VL1) LC1,

20 причем VL1 содержит определяющую комплементарность область 1 легкой цепи (LCDR1), LCDR2 и LCDR3, имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 4, 5 и 6 соответственно;

(3) вторую тяжелую цепь (HC2), содержащую вариабельную область 2 (VH2) HC2,

25 причем VH2 содержит определяющую комплементарность область 1 тяжелой цепи (HCDR1), HCDR2 и HCDR3, имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 11, 12 и 13 соответственно; и

(4) вторую легкую цепь (LC2), содержащую вариабельную область 2 (VL2) LC2,

30 причем VL2 содержит определяющую комплементарность область 1 легкой цепи (LCDR1), LCDR2 и LCDR3, имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 14, 15 и 16 соответственно;

(b) от около 10 mM до около 20 mM ацетата и/или фармацевтически приемлемой ацетатной соли;

- (с) от около 6% (масс./об.) до около 10% (масс./об.) сахарозы;
- (d) от около 16 мкг/мл до около 24 мкг/мл этилендиаминтетрауксусной кислоты (EDTA);
- (е) от около 0,01% до около 0,07% полисорбата 20; и
- 5 (f) рН от около 4,7 до около 5,7.

**[0059]** В другом общем аспекте в настоящем документе предложены стабильные водные фармацевтические композиции, содержащие:

(а) концентрацию от около 76,5 мг/мл до около 103,5 мг/мл биспецифического антитела к антигену созревания В-клеток (BCMA) / кластеру дифференцировки 3 (CD3) или его антигенсвязывающего фрагмента, при этом биспецифическое антитело к BCMA/CD3 или его антигенсвязывающий фрагмент содержит:

- (1) первую тяжелую цепь (HC1), содержащую варибельную область 1 (VH1) HC1, причем VH1 содержит определяющую комплементарность область 1 тяжелой цепи (HCDR1), HCDR2 и HCDR3, имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 1, 2 и 3 соответственно;
- 15 (2) первую легкую цепь (LC1), содержащую варибельную область (VL1) LC1, причем VL1 содержит определяющую комплементарность область 1 легкой цепи (LCDR1), LCDR2 и LCDR3, имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 4, 5 и 6 соответственно;
- 20 (3) вторую тяжелую цепь (HC2), содержащую варибельную область 2 (VH2) HC2, причем VH2 содержит определяющую комплементарность область 1 тяжелой цепи (HCDR1), HCDR2 и HCDR3, имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 11, 12 и 13 соответственно; и
- 25 (4) вторую легкую цепь (LC2), содержащую варибельную область 2 (VL2) LC2, причем VL2 содержит определяющую комплементарность область 1 легкой цепи (LCDR1), LCDR2 и LCDR3, имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 14, 15 и 16 соответственно;
- 30

- (b) от около 10 мМ до около 20 мМ ацетата и/или фармацевтически приемлемой ацетатной соли;
- (с) от около 6% (масс./об.) до около 10% (масс./об.) сахарозы;

(d) от около 16 мкг/мл до около 24 мкг/мл этилендиаминтетрауксусной кислоты (EDTA);

(e) от около 0,01% до около 0,07% полисорбата 20; и

(f) pH от около 4,7 до около 5,7.

5 **[0060]** В определенных вариантах осуществления биспецифическое антитело к ВСМА/CD3 содержит VH1, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 7, и VL1, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 8. В определенных вариантах осуществления биспецифическое антитело к ВСМА/CD3 содержит HC1, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 9, и LC1,  
10 имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 10. В определенных вариантах осуществления биспецифическое антитело к ВСМА/CD3 содержит VH2, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 17, и VL2, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 18. В определенных вариантах осуществления биспецифическое антитело к ВСМА/CD3 содержит HC2, имеющую  
15 аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 19, и LC2, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 20. Биспецифическое антитело к ВСМА/CD3 может, например, представлять собой теклистамаб.

**[0061]** В определенных вариантах осуществления биспецифическое антитело к ВСМА/CD3 имеет концентрацию от около 7 мг/мл до около 13 мг/мл, от около  
20 7,5 мг/мл до около 12,5 мг/мл, от около 8 мг/мл до около 12 мг/мл или от около 9 мг/мл до около 11 мг/мл. Биспецифическое антитело к ВСМА/CD3 может, например, иметь концентрацию около 7 мг/мл, около 7,5 мг/мл, около 8 мг/мл, около 9 мг/мл, около 10 мг/мл, около 11 мг/мл, около 12 мг/мл, около 12,5 мг/мл или около 13 мг/мл или любое промежуточное значение. В предпочтительных вариантах осуществления  
25 биспецифическое антитело к ВСМА/CD3 имеет концентрацию около 10 мг/мл.

**[0062]** В определенных вариантах осуществления биспецифическое антитело к ВСМА/CD3 имеет концентрацию от около 76,5 мг/мл до около 103,5 мг/мл, от около  
81 мг/мл до около 99 мг/мл, от около 85 мг/мл до около 95 мг/мл или от около 87 мг/мл до около 93 мг/мл. Биспецифическое антитело к ВСМА/CD3 может, например, иметь  
30 концентрацию около 76,5 мг/мл, около 77 мг/мл, около 78 мг/мл, около 79 мг/мл, около 80 мг/мл, около 81 мг/мл, около 82 мг/мл, около 83 мг/мл, около 84 мг/мл, около 85 мг/мл, около 86 мг/мл, около 87 мг/мл, около 88 мг/мл, около 89 мг/мл, около 90 мг/мл, около 91 мг/мл, около 92 мг/мл, около 93 мг/мл, около 94 мг/мл, около 95 мг/мл, около 96 мг/мл, около 97 мг/мл, около 98 мг/мл, около 99 мг/мл, около

100 мг/мл, около 101 мг/мл, около 102 мг/мл, около 103 мг/мл или около 103,5 мг/мл или любое промежуточное значение. В предпочтительных вариантах осуществления биспецифическое антитело к ВСМА/CD3 имеет концентрацию около 90 мг/мл.

5 **[0063]** В определенных вариантах осуществления композиция содержит от около 10 мМ до около 20 мМ, от около 12 мМ до около 18 мМ или от около 14 мМ до около 16 мМ ацетата и/или фармацевтически приемлемой ацетатной соли. Композиция может, например, содержать около 10 мМ, около 11 мМ, около 12 мМ, около 13 мМ, около 14 мМ, около 15 мМ, около 16 мМ, около 17 мМ, около 18 мМ, около 19 мМ или около 20 мМ или любое промежуточное значение концентрации ацетата и/или  
10 фармацевтически приемлемой ацетатной соли. В предпочтительных вариантах осуществления композиция содержит около 15 мМ ацетата или фармацевтически приемлемой ацетатной соли.

**[0064]** В определенных вариантах осуществления композиция содержит от около 6% (масс./об.) до около 10% (масс./об.) или от около 7% (масс./об.) до около 9% (масс./об.)  
15 сахарозы. Композиция может, например, содержать около 6% (масс./об.), около 7% (масс./об.), около 8% (масс./об.), около 9% (масс./об.) или около 10% (масс./об.) или любое промежуточное значение концентрации сахарозы.

**[0065]** В определенных вариантах осуществления композиция содержит от около 16 мг/мл до около 24 мг/мл или от около 18 мг/мл до около 22 мг/мл EDTA.  
20 Композиция может, например, содержать около 16 мг/мл, около 17 мг/мл, около 18 мг/мл, около 19 мг/мл, около 20 мг/мл, около 21 мг/мл, около 22 мг/мл, около 23 мг/мл или около 24 мг/мл или любое промежуточное значение концентрации EDTA. В предпочтительных вариантах осуществления композиция содержит около 20 мг/мл EDTA.

25 **[0066]** В определенных вариантах осуществления композиция содержит от около 0,01% до около 0,07%, от около 0,02% до около 0,06% или от около 0,03% до около 0,05% полисорбата 20 (PS 20). Композиция может, например, содержать около 0,01%, около 0,02%, около 0,03%, около 0,04%, около 0,05%, около 0,06% или около 0,07% или любое промежуточное значение концентрации PS 20. В предпочтительных  
30 вариантах осуществления композиция содержит около 0,04% PS 20.

**[0067]** В определенных вариантах осуществления pH композиции составляет от около 4,7 до около 5,7, от около 4,8 до около 5,6, от около 4,9 до около 5,5. pH композиции может, например, составлять около 4,7, около 4,8, около 4,9, около 5,0, около 5,1, около 5,2, около 5,3, около 5,4, около 5,5, около 5,6 или около 5,7 или любое промежуточное

значение. В предпочтительных вариантах осуществления рН композиции составляет около 5,2.

**[0068]** Стабильность описанных в настоящем документе водных фармацевтических композиций, также называемых лекарственным препаратом (ЛП), определяют на основании конкретного количества или соотношения антитела к ВСМАхCD3 и других компонентов ЛП, предложенных в настоящем документе (таких как, без ограничений, ацетат и/или фармацевтически приемлемые ацетатные соли, сахара, PS20 и EDTA), а также оценки различных факторов. Эти факторы включают, без ограничений, цвет раствора, рН, мутность, чистоту в процентах, число невидимых частиц, процентное содержание нового (-ых) пика (-ов), процентное содержание основного компонента, процентное содержание высокомолекулярных соединений (HMWS), процентное содержание низкомолекулярных соединений (LMWS), процентное содержание суммы кислотных пиков, процентное содержание суммы щелочных пиков, концентрацию белка, процентный показатель активации Т-клеток и/или процентное содержание PS20.

**[0069]** Стабильный ЛП, как описано в настоящем документе, должен толковаться как требующий наличия не всех факторов, перечисленных в настоящем документе, а, скорее, по меньшей мере одного, по меньшей мере двух или по меньшей мере трех или более из этих факторов. В некоторых вариантах осуществления стабильный описанный ЛП показывает приведенные далее результаты для по меньшей мере одного, по меньшей мере двух, по меньшей мере трех или более факторов, подробно перечисленных ниже в настоящем документе. В предпочтительном варианте осуществления стабильный ЛП показывает приведенные далее результаты для большинства факторов, подробно рассмотренных ниже в настоящем документе. В наиболее предпочтительном варианте осуществления стабильный ЛП показывает приведенные далее результаты для всех факторов, подробно рассмотренных ниже в настоящем документе.

#### **[0070] Цвет раствора**

**[0071]** Цвет раствора ЛП отслеживается и может быть оценен для подтверждения того, что внешний вид раствора соответствует предыдущим партиям при выпуске и в течение срока годности. Цвет раствора ЛП может отражать стабильность. В одном варианте осуществления стабильность ЛП определяется по цвету раствора, варьирующемуся от бесцветного до около ВУ2 или менее, до около ВУ4 или менее, до около В2 или менее, до около В4 или менее, до около У2 или менее или до около У4 или менее, как описано в статье 2.2.2 Европейской фармакопеи «Степень окрашивания

жидкостей», European Pharmacopoeia (Ph. Eur.) 10th Edition monograph number 20202, July 2019.

**[0072]** В одном варианте осуществления стабильность определяется по цвету

раствора от бесцветного до около ВУ2 или менее, около В2 или менее, около У2 или  
5 менее после хранения в течение около 12 месяцев или более и при температуре около  
5 °С, после хранения в течение около 12 месяцев или более и при температуре около  
25 °С и/или после хранения в течение около 2 лет или более и при температуре около  
5 °С. В предпочтительном варианте осуществления определяется по цвету раствора от  
10 бесцветного до около ВУ4 или менее, до около В4 или менее, до около У4 или менее  
после хранения в течение около 12 месяцев или более и при температуре около 5 °С,  
после хранения в течение около 12 месяцев или более и при температуре около 25 °С  
и/или после хранения в течение около 2 лет или более и при температуре около 5 °С.

В наиболее предпочтительном варианте осуществления стабильность определяется по  
цвету раствора от бесцветного до около ВУ5 или менее, до около В5 или менее, до  
15 около У5 или менее после хранения в течение около 12 месяцев или более и при  
температуре около 5 °С, после хранения в течение около 12 месяцев или более и при  
температуре около 25 °С и/или после хранения в течение около 2 лет или более и при  
температуре около 5 °С.

**[0073] рН**

**[0074]** Измерение рН раствора ЛП позволяет подтвердить, что он соответствует  
20 предыдущим партиям ЛП при выпуске и в течение срока годности. В одном варианте  
осуществления стабильность ЛП определяется, когда его значение рН составляет  
около: 4,8, 4,9, 5,0, 5,1, 5,2, 5,3, 5,4, 5,5, 5,6, 5,7, 5,8, 5,9, 6,0, 6,1, 6,2, 6,3, 6,4, 6,5, 6,6, 6,7,  
6,8, 6,9 или 7,0. В одном варианте осуществления рН ЛП составляет около 5,2 после  
25 хранения в течение около 12 месяцев или более и при температуре около 5 °С, после  
хранения в течение около 12 месяцев или более и при температуре около 25 °С и/или  
после хранения в течение около 2 лет или более и при температуре около 5 °С. В одном  
варианте осуществления рН находится в диапазоне от около 4,7 до около 5,7 после  
хранения в течение около 12 месяцев или более и при температуре около 5 °С, после  
30 хранения в течение около 12 месяцев или более и при температуре около 25 °С и/или  
после хранения в течение около 2 лет или более и при температуре около 5 °С.

В предпочтительном варианте осуществления стабильность ЛП определяют, когда его  
рН находится в диапазоне от около 4,8 до около 5,6 после хранения в течение около  
12 месяцев или более и при температуре около 5 °С, после хранения в течение около

12 месяцев или более и при температуре около 25 °С и/или после хранения в течение около 2 лет или более и при температуре около 5 °С. В наиболее предпочтительном варианте осуществления стабильность ЛП определяют, когда его рН находится в диапазоне от около 4,9 до около 5,5 после хранения в течение около 12 месяцев или более и при температуре около 5 °С, после хранения в течение около 12 месяцев или более и при температуре около 25 °С и/или после хранения в течение около 2 лет или более и при температуре около 5 °С.

**[0075] Мутность**

**[0076]** Определение мутности позволяет измерить наличие частиц в растворе ЛП, чтобы обеспечить соответствие предыдущим партиям ЛП и действующим справочным руководствам при выпуске и в течение срока годности. В одном варианте осуществления стабильность ЛП определяется, когда его значение мутности составляет около: 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 или 20 нефелометрических единиц мутности (NTU) после хранения в течение около 12 месяцев или более и при температуре около 5 °С, после хранения в течение около 12 месяцев или более и при температуре около 25 °С и/или после хранения в течение около 2 лет или более и при температуре около 5 °С. В одном варианте осуществления стабильность ЛП определяют, когда его значение мутности составляет около или менее 18 NTU после хранения в течение около 12 месяцев или более и при температуре около 5 °С, после хранения в течение около 12 месяцев или более и при температуре около 25 °С и/или после хранения в течение около 2 лет или более и при температуре около 5 °С. В предпочтительном варианте осуществления стабильность ЛП определяют, когда его значение мутности составляет около или менее 13 NTU после хранения в течение около 12 месяцев или более и при температуре около 5 °С, после хранения в течение около 12 месяцев или более и при температуре около 25 °С и/или после хранения в течение около 2 лет или более и при температуре около 5 °С. В наиболее предпочтительном варианте осуществления стабильность ЛП определяют, когда его значение мутности составляет около или менее 8 NTU после хранения в течение около 12 месяцев или более и при температуре около 5 °С, после хранения в течение около 12 месяцев или более и при температуре около 25 °С и/или после хранения в течение около 2 лет или более и при температуре около 5 °С.

**[0077] Анализ на частицы**

**[0078]** Для стабильности ЛП устанавливается конкретный порог загрязнения частицами, основанный на среднем числе невидимых частиц. В одном варианте

осуществления среднее число частиц, присутствующих в тестируемых единицах ЛП, не должно превышать 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1000, 2000, 3000, 4000, 5000 или 6000 на контейнер для размера частиц, равного 10 мкм или более. В одном варианте осуществления среднее число частиц, присутствующих в тестируемых единицах ЛП, не должно превышать 6000 на контейнер для размера частиц, равного 10 мкм или более. В одном варианте осуществления среднее число частиц, присутствующих в тестируемых единицах ЛП, не должно превышать 100, 200, 300, 400, 500 или 600 на контейнер для размера частиц, равного 25 мкм или более. В одном варианте осуществления среднее число частиц, присутствующих в тестируемых единицах ЛП, не должно превышать 600 на контейнер для размера частиц, равного 25 мкм или более.

**[0079] Условия капиллярного электрофореза в присутствии додецилсульфата натрия (кДСН)**

**[0080]** Капиллярный ДСН-ПААГ (кДСН), как и гелевый ДСН-ПААГ, представляет собой способ разделения денатурированных белков на основании молекулярной массы. Этот процесс позволяет количественно определять чистоту ЛП и контролировать его стабильность при выпуске и в течение срока годности.

**[0081]** В одном варианте осуществления стабильность ЛП определяют на основании различных результатов для переменных кДСН (например, процентной чистоты или наличия нового пика), причем кДСН проводили в восстанавливающих или невосстанавливающих условиях после хранения в течение около 12 месяцев или более и при температуре около 5 °С, после хранения в течение около 12 месяцев или более и при температуре около 25 °С и/или после хранения в течение около 2 лет или более и при температуре около 5 °С.

**[0082]** В одном варианте осуществления стабильность ЛП определяют как значение процентной чистоты, составляющее около: 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или около или равное 100% или любое значение из диапазона между указанными значениями.

**[0083]** В одном варианте осуществления стабильность ЛП определяется как отсутствие в результатах кДСН-электрофореза нового пика более 0,5%, 0,8%, 0,9%, 1,0%, 1,2%, 1,3%, 1,4%, 1,5%, 1,6%, 1,7%, 1,8%, 1,9% или более 2% по сравнению с необработанным эталонным материалом.

**[0084]** В одном варианте осуществления стабильность ЛП определяется как значение процентной чистоты около 90% или более и отсутствие нового пика более 1,5% по

сравнению с эталонным материалом. В предпочтительном варианте осуществления стабильность ЛП определяют как значение процентной чистоты около 95% или более и отсутствие нового пика более 1,2% по сравнению с эталонным материалом. В наиболее предпочтительном варианте осуществления стабильность ЛП определяют как значение процентной чистоты около 97% или более и отсутствие нового пика более 1,0% по сравнению с эталонным материалом.

**[0085] Результаты эксклюзионной высокоэффективной жидкостной хроматографии (эВЭЖХ) отражают стабильность**

**[0086]** Процедура эВЭЖХ позволяет оценивать чистоту ЛП и контролировать его стабильность в неденатурирующих условиях при выпуске и в течение срока годности.

**[0087]** В одном варианте осуществления стабильность ЛП определяют на основании различных результатов для переменных эВЭЖХ, таких как основной компонент (МС), высокомолекулярные соединения (HMWS) или низкомолекулярные соединения (LMWS), после хранения ЛП в течение около 12 месяцев или более и при температуре около 5 °С, после хранения в течение около 12 месяцев или более и при температуре около 25 °С и/или после хранения в течение около 2 лет или более и при температуре около 5 °С.

**[0088]** В одном варианте осуществления стабильность ЛП определяется как значение доли МС около: 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или равное около 100% или любое значение из диапазона между указанными значениями. В одном варианте осуществления стабильность ЛП определяют как значение доли МС около 90% или более.

В предпочтительном варианте осуществления стабильность ЛП определяется как значение доли МС около 95% или более. В наиболее предпочтительном варианте осуществления стабильность ЛП определяется как значение доли МС около 97% или более.

**[0089]** В одном варианте осуществления стабильность ЛП определяется как значение доли HMWS около: 0,1%, 0,5%, 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 6%, 7%, 8%, 9%, 10%, 11%, 12%, 13%, 14%, 15% или любое значение из диапазона между указанными значениями.

В одном варианте осуществления стабильность ЛП определяют как значение доли HMWS около 10% или менее. В предпочтительном варианте осуществления стабильность ЛП определяют как значение доли HMWS около 5% или менее.

В наиболее предпочтительном варианте осуществления стабильность ЛП определяется как значение доли HMWS около 3% или менее.

**[0090]** В одном варианте осуществления стабильность ЛП определяется как значение доли LMWS около: 0,1%, 0,5%, 0,6%, 0,7%, 0,8%, 0,9%, 1%, 1,5%, 2%, 2,5%, 3%, 3,5%, 4%, 4,5%, 5%, 5,5%, 6%, 6,5%, 7%, 7,5%, 8%, 8,5%, 9%, 9,5% или 10%. В одном варианте осуществления стабильность ЛП определяется как значение доли LMWS около 5% или менее. В предпочтительном варианте осуществления стабильность ЛП определяется как значение доли LMWS около 2% или менее. В наиболее предпочтительном варианте осуществления стабильность ЛП определяется как значение доли LMWS около 1% или менее.

**[0091] Капиллярное изоэлектрическое фокусирование (КИЭФ)**

**[0092]** КИЭФ, как и методы гель-электрофореза с изоэлектрическим фокусированием (ИЭФ), дает возможность разделять белки на основе общего заряда или изоэлектрической точки (pI). Эта процедура позволяет контролировать распределение зарядовых изоформ лекарственного препарата при высвобождении и в течение срока годности. В одном варианте осуществления стабильность ЛП определяется на основании различных результатов для переменных КИЭФ, таких как главный пик (MP), сумма кислотных пиков или сумма щелочных пиков, после хранения ЛП в течение около 12 месяцев или более и при температуре около 25 °С и/или после хранения в течение около 2 лет или более и при температуре около 5 °С.

**[0093]** В одном варианте осуществления стабильность ЛП определяется как значение доли MP при выполнении КИЭФ, составляющее около: 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или 100% или любое значение из диапазона между указанными значениями после хранения ЛП в течение около 12 месяцев или более и при температуре около 25 °С и/или после хранения в течение около 2 лет или более и при температуре около 5 °С. В одном варианте осуществления стабильность ЛП определяют как значение доли MP при выполнении КИЭФ, составляющее  $\geq 60\%$  после хранения ЛП в течение около 12 месяцев или более и при температуре около 25 °С и/или после хранения в течение около 2 лет или более и при температуре около 5 °С. В предпочтительном варианте осуществления стабильность ЛП определяют как значение доли MP при выполнении КИЭФ, составляющее  $\geq 65\%$  после хранения ЛП в течение около 12 месяцев или более и при температуре около 25 °С и/или после хранения в течение около 2 лет или более и при температуре около 5 °С. В наиболее предпочтительном варианте осуществления стабильность ЛП определяют как значение доли MP при выполнении КИЭФ, составляющее  $\geq 70\%$  после хранения ЛП в течение около 12 месяцев или более и при

температуре около 25 °С и/или после хранения в течение около 2 лет или более и при температуре около 5 °С.

**[0094]** В одном варианте осуществления стабильность ЛП определяют как наличие кИЭФ с общей суммой кислотных пиков около: 1%, 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%,

5 35%, 40% или любое значение из диапазона между указанными значениями после хранения ЛП в течение около 12 месяцев или более и при температуре около 25 °С и/или после хранения в течение около 2 лет или более и при температуре около 5 °С.

В одном варианте осуществления стабильность ЛП определяют как величину суммы кислотных пиков при выполнении кИЭФ, составляющую  $\leq 40\%$  после хранения ЛП в  
10 течение около 12 месяцев или более и при температуре около 25 °С и/или после хранения в течение около 2 лет или более и при температуре около 5 °С.

В предпочтительном варианте осуществления стабильность ЛП определяют как величину общей суммы кислотных пиков при выполнении кИЭФ, составляющую  $\leq 30\%$  после хранения ЛП в течение около 12 месяцев или более и при температуре около  
15 25 °С и/или после хранения в течение около 2 лет или более и при температуре около 5 °С. В наиболее предпочтительном варианте осуществления стабильность ЛП

определяют как величину общей суммы кислотных пиков при выполнении кИЭФ, составляющую  $\leq 25\%$  после хранения ЛП в течение около 12 месяцев или более и при температуре около 25 °С и/или после хранения в течение около 2 лет или более и при  
20 температуре около 5 °С.

**[0095]** В одном варианте осуществления стабильность ЛП определяют как величину общей суммы кислотных пиков при выполнении кИЭФ около: 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 6%, 7%, 8%, 9%, 10%, 11%, 12%, 13%, 14%, 15%, 16%, 17%, 18%, 19% или 20% или любое  
значение из диапазона между указанными значениями после хранения ЛП в течение

25 около 12 месяцев или более и при температуре около 25 °С и/или после хранения в течение около 2 лет или более и при температуре около 5 °С. В одном варианте

осуществления стабильность ЛП определяют как величину общей суммы щелочных пиков при выполнении кИЭФ, составляющую около 15% или менее после хранения ЛП  
в течение около 12 месяцев или более и при температуре около 25 °С и/или после  
30 хранения в течение около 2 лет или более и при температуре около 5 °С.

В предпочтительном варианте осуществления стабильность ЛП определяют как величину общей суммы щелочных пиков при выполнении кИЭФ, составляющую менее или около 10% после хранения ЛП в течение около 12 месяцев или более и при  
температуре около 25 °С и/или после хранения в течение около 2 лет или более и при

температуре около 5 °С. В наиболее предпочтительном варианте осуществления стабильность ЛП определяют как величину общей суммы щелочных пиков при выполнении КИЭФ, составляющую менее или около 8% после хранения ЛП в течение около 12 месяцев или более и при температуре около 25 °С и/или после хранения в течение около 2 лет или более и при температуре около 5 °С.

**[0096] Концентрация белка**

**[0097]** Концентрация белка в ЛП позволяет проверить его соответствие предыдущим партиям ЛП при выпуске и в течение срока годности. Количественное определение концентрации белка может быть выполнено посредством измерения поглощения ультрафиолетового (УФ) света раствором лекарственного продукта на 280 нм (A280).

**[0098] Состав ЛП 10 мг/мл**

**[0099]** В одном варианте осуществления стабильность ЛП определяется как значение концентрации белка около: 5 мг/мл, 6 мг/мл, 7 мг/мл, 8 мг/мл, 9 мг/мл, 10 мг/мл, 11 мг/мл, 12 мг/мл, 13 мг/мл, 14 мг/мл, 15 мг/мл или любое промежуточное значение после хранения ЛП в течение около 12 месяцев или более и при температуре около 25 °С и/или после хранения в течение около 2 лет или более и при температуре около 5 °С. В одном варианте осуществления стабильность ЛП определяют как значение концентрации белка от около 7 мг/мл до около 13 мг/мл после хранения ЛП в течение около 12 месяцев или более и при температуре около 25 °С и/или после хранения в течение около 2 лет или более и при температуре около 5 °С. В предпочтительном варианте осуществления стабильность ЛП определяют как значение концентрации белка от около 8 мг/мл до около 12 мг/мл после хранения ЛП в течение около 12 месяцев или более и при температуре около 25 °С и/или после хранения в течение около 2 лет или более и при температуре около 5 °С. В наиболее предпочтительном варианте осуществления стабильность ЛП определяют как значение концентрации белка от около 9 мг/мл до около 11 мг/мл после хранения ЛП в течение около 12 месяцев или более и при температуре около 25 °С и/или после хранения в течение около 2 лет или более и при температуре около 5 °С.

**[00100] Состав ЛП 90 мг/мл**

**[00101]** В одном варианте осуществления стабильность ЛП определяется как значение концентрации белка около: 75 мг/мл, 76 мг/мл, 77 мг/мл, 78 мг/мл, 79 мг/мл, 80 мг/мл, 81 мг/мл, 82 мг/мл, 83 мг/мл, 84 мг/мл, 85 мг/мл, 86 мг/мл, 87 мг/мл, 88 мг/мл, 89 мг/мл, 90 мг/мл, 91 мг/мл, 92 мг/мл, 93 мг/мл, 94 мг/мл, 95 мг/мл, 96 мг/мл, 97 мг/мл, 98 мг/мл, 99 мг/мл, 100 мг/мл, 101 мг/мл, 102 мг/мл, 103 мг/мл, 104 мг/мл или 105 мг/мл

или любое промежуточное значение после хранения ЛП в течение около 12 месяцев или более и при температуре около 25 °С и/или после хранения в течение около 2 лет или более и при температуре около 5 °С. В одном варианте осуществления стабильность ЛП определяют как значение концентрации белка от около 81 мг/мл до около 99 мг/мл после хранения ЛП в течение около 12 месяцев или более и при температуре около 25 °С и/или после хранения в течение около 2 лет или более и при температуре около 5 °С. В предпочтительном варианте осуществления стабильность ЛП определяется как значение концентрации белка от около 85 мг/мл до около 95 мг/мл после хранения ЛП в течение около 12 месяцев или более и при температуре около 25 °С и/или после хранения в течение около 2 лет или более и при температуре около 5 °С. В наиболее предпочтительном варианте осуществления стабильность ЛП определяется как значение концентрации белка от около 87 мг/мл до около 93 мг/мл после хранения ЛП в течение около 12 месяцев или более и при температуре около 25 °С и/или после хранения в течение около 2 лет или более и при температуре около 5 °С.

**[00102] Пептидное картирование**

**[00103]** Посттрансляционные модификации (ПТМ), такие как окисление, дезамидирование и изомеризация, представляют собой ферментативные модификации, которые могут быть обнаружены в структуре антитела. В некоторых вариантах осуществления стабильность ПЛ оценивают на основании уровня ПТМ в антителе. Тестируемые препараты подвергают ферментативному расщеплению для получения пептидных сегментов. Затем оценку этих пептидов проводят, например, посредством масс-спектрометрии (МС), тандемной масс-спектрометрии (МС/МС) или сверхвысокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрией (СВЭЖХ-МС). Каждую анализируемую пептидную последовательность идентифицируют относительно ее известного положения в общей структуре антитела. Посттрансляционные модификации определяют путем сравнения измеренной массы идентифицированной пептидной последовательности с ее ожидаемой массой.

**[00104] Эффективность лекарственного продукта**

**[00105]** Анализ активации Т-клеток *in vitro* позволяет оценить уровень стабильности ЛП. Данную активацию можно оценить с использованием, без ограничений, анализа люминесценции, опосредованной ядерным фактором активированных Т-клеток — ответным элементом (NFAT-RE).

**[00106] Активность в отношении активации ВСМАхCD3 Т-клеток**

**[00107]** В одном варианте осуществления стабильность ЛП определяют как наличие активности в отношении активации Т-клеток, опосредованной ВСМАхCD3, относительно эталона, составляющей около: 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 100%, 110%, 120%, 130%, 140%, 150% или 160%, или любое значение из диапазона между указанными значениями после хранения ЛП в течение около 12 месяцев или более и при температуре около 5 °С, после хранения в течение около 12 месяцев или более и при температуре около 25 °С и/или после хранения в течение около 2 лет или более и при температуре около 5 °С. В одном варианте осуществления стабильность ЛП определяют как наличие активности в отношении активации Т-клеток, опосредованной ВСМАхCD3, в диапазоне от около 50% до около 150% относительно эталона после хранения ЛП в течение около 12 месяцев или более и при температуре около 25 °С и/или после хранения в течение около 2 лет или более и при температуре около 5 °С. В предпочтительном варианте осуществления стабильность ЛП определяют как наличие активности в отношении активации Т-клеток, опосредованной ВСМАхCD3, в диапазоне от около 60% до около 140% относительно эталона после хранения ЛП в течение около 12 месяцев или более и при температуре около 25 °С и/или после хранения в течение около 2 лет или более и при температуре около 5 °С. В наиболее предпочтительном варианте осуществления стабильность ЛП определяют как наличие активности в отношении активации Т-клеток, опосредованной ВСМАхCD3, в диапазоне от около 80% до около 120% относительно эталона после хранения ЛП в течение около 12 месяцев или более и при температуре около 25 °С и/или после хранения в течение около 2 лет или более и при температуре около 5 °С.

**[00108] Полисорбат 20 (PS20)**

**[00109]** В одном варианте осуществления стабильность ЛП определяют как значение концентрации PS20 в процентах массы к объему, составляющее около: 0,005%, 0,01%, 0,02%, 0,03%, 0,04%, 0,05%, 0,06%, 0,07%, 0,08%, 0,09%, 0,10% или любое значение из диапазона между указанными значениями после хранения ЛП в течение около 12 месяцев или более и при температуре около 5 °С, после хранения в течение около 12 месяцев или более и при температуре около 25 °С и/или после хранения в течение около 2 лет или более и при температуре около 5 °С. В одном варианте осуществления стабильность ЛП определяется как значение концентрации PS20 от около 0,02% до около 0,1% после хранения ЛП в течение около 12 месяцев или более и при температуре около 25 °С и/или после хранения в течение около 2 лет или более и при

температуре около 5 °С. В одном варианте осуществления стабильность ЛП определяют как значение концентрации PS20 от около 0,01% до около 0,07%.

В предпочтительном варианте осуществления стабильность ЛП определяют как значение концентрации PS20 от около 0,02% до около 0,06% после хранения ЛП в

5 течение около 12 месяцев или более и при температуре около 25 °С и/или после хранения в течение около 2 лет или более и при температуре около 5 °С. В наиболее предпочтительном варианте осуществления стабильность ЛП определяют как значение концентрации PS20 от около 0,03% до около 0,05% после хранения ЛП в течение около 12 месяцев или более и при температуре около 25 °С и/или после хранения в течение  
10 около 2 лет или более и при температуре около 5 °С.

**[00110] Общий объем стабильной водной фармацевтической композиции**

**[00111] Состав 10 мг/мл**

**[00112]** В одном варианте осуществления общий объем стабильной водной фармацевтической композиции (или ЛП) находится в диапазоне от около 5 мл до около

15 10 мл. В одном варианте осуществления общий объем стабильной водной фармацевтической композиции (или ЛП) находится в диапазоне от около 0,5 мл до около 20 мл, от около 1 мл до около 15 мл, от около 5 мл до около 10 мл или от около 6 мл до около 8 мл. В одном варианте осуществления общий объем стабильной водной фармацевтической композиции составляет около: 0,5 мл, 0,6 мл, 0,7 мл, 0,8 мл, 0,9 мл,  
20 1 мл, 2 мл, 3 мл, 4 мл, 5 мл, 6 мл, 8 мл, 9 мл, 10 мл, 11 мл, 12 мл, 13 мл, 14 мл, 15 мл, 16 мл, 18 мл, 19 мл, 20 мл, 25 мл или 30 мл или любое значение из диапазона между указанными значениями. В одном варианте осуществления общий объем стабильной водной фармацевтической композиции составляет 2 мл.

**[00113] Состав 90 мг/мл**

25 **[00114]** В одном варианте осуществления общий объем стабильной водной фармацевтической композиции (или ЛП) находится в диапазоне от около 5 мл до около 10 мл. В одном варианте осуществления общий объем стабильной водной

фармацевтической композиции (или ЛП) находится в диапазоне от около 0,5 мл до около 20 мл, от около 1 мл до около 15 мл, от около 5 мл до около 10 мл или от около  
30 6 мл до около 8 мл. В одном варианте осуществления общий объем стабильной водной фармацевтической композиции составляет около: 0,5 мл, 0,6 мл, 0,7 мл, 0,8 мл, 0,9 мл, 1 мл, 2 мл, 3 мл, 4 мл, 5 мл, 6 мл, 8 мл, 9 мл, 10 мл, 11 мл, 12 мл, 13 мл, 14 мл, 15 мл, 16 мл, 18 мл, 19 мл, 20 мл, 25 мл или 30 мл или любое значение из диапазона между

указанными значениями. В одном варианте осуществления общий объем стабильной водной фармацевтической композиции составляет 3,5 мл.

### **[00115] СПОСОБЫ**

5 **[00116]** В настоящем документе предложен способ лечения рака у субъекта, нуждающегося в этом. Способ включает в себя введение стабильной водной фармацевтической композиции субъекту, как описано в настоящем документе. В определенных вариантах осуществления введение является подкожным.

### **[00117] Раковые заболевания**

10 **[00118]** В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой гематологическую злокачественную опухоль или солидную опухоль.

**[00119]** В некоторых вариантах осуществления гематологическая злокачественная опухоль представляет собой множественную миелому, вялотекущую множественную миелому, моноклональную гаммапатию неясного генеза (MGUS), острый лимфобластный лейкоз (ALL), диффузную В-крупноклеточную лимфому (DLBCL), 15 лимфому Беркитта (BL), фолликулярную лимфому (FL), мантийноклеточную лимфому (MCL), макроглобулинемию Вальденстрема, плазмочитарный лейкоз, амилоидоз легкой цепи (AL), В-клеточный лимфобластный лейкоз из клеток-предшественников, В-клеточный лимфобластный лейкоз из клеток-предшественников, острый миелоидный лейкоз (AML), миелодиспластический синдром (MDS), хронический лимфоцитарный 20 лейкоз (CLL), злокачественную В-клеточную опухоль, хронический миелоидный лейкоз (CML), лейкоз ворсистых клеток (HCL), бластную плазмочитоидную дендритноклеточную опухоль, лимфому Ходжкина, неходжкинскую лимфому, В-клеточную лимфому маргинальной зоны (MZL), лимфому лимфоидной ткани, ассоциированной со слизистыми оболочками (MALT), плазмочелочный лейкоз, 25 анапластическую крупноклеточную лимфому (ALCL), лейкоз или лимфому.

**[00120]** В предпочтительных вариантах осуществления гематологическая злокачественная опухоль представляет собой множественную миелому. В некоторых вариантах осуществления у испытуемого впервые диагностирована множественная миелома. В некоторых вариантах осуществления у субъекта наблюдается рецидив или 30 рефрактерность к лечению предшествующим противораковым терапевтическим средством, таким как терапевтическое средство, используемое для лечения множественной миеломы или других гематологических злокачественных опухолей.

**[00121]** В некоторых вариантах осуществления у испытуемого наблюдается рецидив или рефрактерность к лечению одним или более способами лечения или видами

терапии, такими как THALOMID<sup>®</sup> (талидомид), REVLIMID<sup>®</sup> (леналидомид), POMALYST<sup>®</sup> (помалидомид), VELCADE<sup>®</sup> (бортезомиб), NINLARO (иксазомиб), KYPROLIS<sup>®</sup> (карфилзомиб), FARADYK<sup>®</sup> (панобиностат), AREDIA<sup>®</sup> (памидронат), ZOMETA<sup>®</sup> (золедроновая кислота), DARZALEX<sup>®</sup> (даратумумаб), элтозумаб или мелфалан, Хрoвиo<sup>®</sup> (селинексor), Venclexta<sup>®</sup> (венетоклакc), GSK 916, CAR-T-терапии, другие направленные на BCMA виды терапии.

**[00122]** Различные качественные и/или количественные способы могут применяться для определения рецидивирующих или рефрактерных форм заболевания. Симптомами, которые могут быть связаны, например, с ухудшением или отсутствием улучшения состояния пациента или возвратом или ухудшением различных симптомов, связанных с солидными опухолями, и/или распространением раковых клеток в организме из одного места в другие органы, ткани или клетки.

**[00123]** В некоторых вариантах осуществления множественная миелома является рецидивирующей или рефрактерной к лечению антителом к CD38, селинексором, венетоклаксом, леналиномидом, бортезомибом, помалидомидом, карфилзомибом, элтозумабом, иксазомибом, мелфаланом или талидомидом или любой их комбинацией.

**[00124]** В некоторых вариантах осуществления множественная миелома представляет собой множественную миелому высокого риска. Известно, что субъекты с множественной миеломой высокого риска раньше испытывают рецидивы и имеют неблагоприятный прогноз и исход. Испытуемых можно классифицировать как имеющие множественную миелому высокого риска, если они имеют одну или более из следующих цитогенетических аномалий: t(4;14)(p16;q32), t(14;16)(q32;q23), del17p, 1qAmp, t(4;14)(P16;q32) и t(14;16)(q32;q23), t(4;14)(p16;q32) и del17p, t(14;16)(q32;q23) и del17p, или t(4;14)(p16;q32), t(14;16)(q32;q23) и del17p. В некоторых вариантах осуществления субъект с множественной миеломой высокого риска имеет одну или более хромосомных аномалий, включающих: t(4;14)(p16;q32), t(14;16)(q32;q23), del17p, 1qAmp, t(4;14)(P16;q32) и t(14;16)(q32;q23), t(4;14)(p16;q32) и del17p, t(14;16)(q32;q23) и del17p; или t(4;14)(P16;q32), t(14;16)(q32;q23) и del17p или любую их комбинацию.

**[00125]** Цитогенетические аномалии можно обнаружить, например, с помощью флуоресцентной гибридизации in situ (FISH). При хромосомных транслокациях онкоген перемещается в область IgH на хромосоме 14q32, что приводит к дисрегуляции этих генов. Аномалия t(4;14)(P16;q32) включает транслокацию рецептора фактора роста фибробластов 3 (FGFR3) и белка, содержащего домен множественной миеломы SET

(MMSET) (также называемого WHSC1/NSD2), а t(14;16)(q32;q23) включает транслокацию фактора транскрипции MAF C-MAF. Делеция 17p (del17p) включает утрату локуса гена p53.

**[00126]** Хромосомные перестройки можно идентифицировать с использованием хорошо известных методов, например флуоресцентной гибридизацией *in situ*, кариотипированием, гель-электрофорезом в пульсирующем поле или секвенированием.

**[00127]** В настоящем документе также предложен способ получения стабильной водной фармацевтической композиции биспецифического антитела к антигену созревания В-клеток (BCMA) / кластеру дифференцировки 3 (CD3) или его антигенсвязывающего фрагмента, при этом биспецифическое антитело к BCMA/CD3 или его антигенсвязывающий фрагмент содержит: первую тяжелую цепь (HC1), содержащую вариабельную область 1 (VH1) HC1, причем VH1 содержит определяющую комплементарность область 1 тяжелой цепи (HCDR1), HCDR2 и HCDR3, имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 1, 2 и 3 соответственно; первую легкую цепь (LC1), содержащую вариабельную область (VL1) LC1, причем VL1 содержит определяющую комплементарность область 1 легкой цепи (LCDR1), LCDR2 и LCDR3, имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 4, 5 и 6 соответственно; вторую тяжелую цепь (HC2), содержащую вариабельную область 2 (VH2) HC2, причем VH2 содержит определяющую комплементарность область 1 тяжелой цепи (HCDR1), HCDR2 и HCDR3, имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 11, 12 и 13 соответственно; и вторую легкую цепь (LC2), содержащую вариабельную область 2 (VL2) LC2, причем VL2 содержит определяющую комплементарность область 1 легкой цепи (LCDR1), LCDR2 и LCDR3, имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 14, 15 и 16 соответственно; способ включает объединение композиции, содержащей около 10 мг/мл или около 90 мг/мл биспецифического антитела к BCMA/CD3, около 15 мМ ацетата и/или фармацевтически приемлемой ацетатной соли, около 8% (масс./об.) сахарозы, около 20 мг/мл EDTA и около 0,04% полисорбата (PS) 20, причем стабильная водная фармацевтическая композиция имеет pH около 5,2.

**[00128]** В определенных вариантах осуществления биспецифическое антитело к BCMA/CD3 содержит VH1, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 7, и VL1, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 8. В определенных вариантах осуществления биспецифическое антитело к BCMA/CD3 содержит HC1, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 9, и LC1,

имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 10. В определенных вариантах осуществления биспецифическое антитело к ВСМА/CD3 содержит VH2, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 17, и VL2, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 18. В определенных вариантах осуществления биспецифическое антитело к ВСМА/CD3 содержит HC2, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 19, и LC2, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 20. Биспецифическое антитело к ВСМА/CD3 может, например, представлять собой теклистамаб.

**[00129]** Стабильные водные фармацевтические композиции, описанные в настоящем документе, могут быть упакованы в наборы, контейнеры, упаковки, диспенсеры или флаконы.

**[00130]** В настоящем документе представлен набор, содержащий описанный стабильный водный фармацевтический препарат и инструкции по его применению.

**[00131]** Также в настоящем документе представлено изделие, содержащее контейнер с описанной стабильной водной фармацевтической композицией. В некоторых вариантах осуществления контейнер представляет собой флакон с пробкой, прокалываемой шприцем.

#### ВАРИАНТЫ ОСУЩЕСТВЛЕНИЯ

**[00132]** В настоящем документе представлены иллюстративные варианты осуществления описанной технологии. Эти варианты осуществления являются лишь иллюстративными и не ограничивают объем настоящего описания или прилагаемой формулы изобретения.

**[00133]** Вариант осуществления 1 представляет собой стабильную водную фармацевтическую композицию, содержащую:

а) концентрацию от около 7,5 мг/мл до около 12,5 мг/мл биспецифического антитела к антигену созревания В-клеток (ВСМА) / кластеру дифференцировки 3 (CD3) или его антигенсвязывающего фрагмента, при этом биспецифическое антитело к ВСМА/CD3 или его антигенсвязывающий фрагмент содержит:

(1) первую тяжелую цепь (HC1), содержащую вариабельную область 1 (VH1) HC1, причем VH1 содержит определяющую комплементарность область 1 тяжелой цепи (HCDR1), HCDR2 и HCDR3, имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 1, 2 и 3 соответственно;

- (2) первую легкую цепь (LC1), содержащую переменную область (VL1) LC1, причем VL1 содержит определяющую комплементарность область 1 легкой цепи (LCDR1), LCDR2 и LCDR3, имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 4, 5 и 6 соответственно;
- (3) вторую тяжелую цепь (HC2), содержащую переменную область 2 (VH2) HC2, причем VH2 содержит определяющую комплементарность область 1 тяжелой цепи (HCDR1), HCDR2 и HCDR3, имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 11, 12 и 13 соответственно; и
- (4) вторую легкую цепь (LC2), содержащую переменную область 2 (VL2) LC2, причем VL2 содержит определяющую комплементарность область 1 легкой цепи (LCDR1), LCDR2 и LCDR3, имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 14, 15 и 16 соответственно;
- b) от около 10 мМ до около 20 мМ ацетата и/или фармацевтически приемлемой ацетатной соли;
- c) от около 6% (масс./об.) до около 10% (масс./об.) сахарозы;
- d) от около 16 мкг/мл до около 24 мкг/мл этилендиаминтетрауксусной кислоты (EDTA);
- e) от около 0,01% до около 0,07% полисорбата 20; и
- f) pH от около 4,7 до около 5,7.

**[00134]** Вариант осуществления 1a представляет собой стабильную водную фармацевтическую композицию, содержащую:

- a) концентрацию от около 76,5 мг/мл до около 103,5 мг/мл биспецифического антитела к антигену созревания В-клеток (BCMA) / кластеру дифференцировки 3 (CD3) или его антигенсвязывающего фрагмента, при этом биспецифическое антитело к BCMA/CD3 или его антигенсвязывающий фрагмент содержит:

- (1) первую тяжелую цепь (HC1), содержащую переменную область 1 (VH1) HC1, причем VH1 содержит определяющую комплементарность область 1 тяжелой цепи (HCDR1), HCDR2 и HCDR3, имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 1, 2 и 3 соответственно;

(2) первую легкую цепь (LC1), содержащую вариабельную область (VL1) LC1,

причем VL1 содержит определяющую комплементарность область 1 легкой цепи (LCDR1), LCDR2 и LCDR3, имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 4, 5 и 6 соответственно;

(3) вторую тяжелую цепь (HC2), содержащую вариабельную область 2 (VH2) HC2,

причем VH2 содержит определяющую комплементарность область 1 тяжелой цепи (HCDR1), HCDR2 и HCDR3, имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 11, 12 и 13 соответственно; и

(4) вторую легкую цепь (LC2), содержащую вариабельную область 2 (VL2) LC2,

причем VL2 содержит определяющую комплементарность область 1 легкой цепи (LCDR1), LCDR2 и LCDR3, имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 14, 15 и 16 соответственно;

b) от около 10 мМ до около 20 мМ ацетата и/или фармацевтически приемлемой ацетатной соли;

c) от около 6% (масс./об.) до около 10% (масс./об.) сахарозы;

d) от около 16 мкг/мл до около 24 мкг/мл этилендиаминтетрауксусной кислоты (EDTA);

e) от около 0,01% до около 0,07% полисорбата 20; и

f) pH от около 4,7 до около 5,7.

**[00135]** Вариант осуществления 2 представляет собой стабильную водную фармацевтическую композицию по варианту осуществления 1 или 1a, в которой биспецифическое антитело к BCMA/CD3 содержит VH1, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 7, и VL1, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 8.

**[00136]** Вариант осуществления 3 представляет собой стабильную водную фармацевтическую композицию по варианту осуществления 1 или 1a, в которой биспецифическое антитело к BCMA/CD3 содержит HC, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 9, и LC1, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 10.

**[00137]** Вариант осуществления 4 представляет собой стабильную водную фармацевтическую композицию по варианту осуществления 1 или 1a, в которой

биспецифическое антитело к ВСМА/CD3 содержит VH2, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 17, и VL2, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 18.

5 **[00138]** Вариант осуществления 5 представляет собой стабильную водную фармацевтическую композицию по варианту осуществления 1 или 1а, в которой биспецифическое антитело к ВСМА/CD3 содержит HC2, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 19, и LC2, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 20.

10 **[00139]** Вариант осуществления 6 представляет собой стабильную водную фармацевтическую композицию по варианту осуществления 1 или 1а, в которой биспецифическое антитело к ВСМА/CD3 представляет собой теклистамаб.

**[00140]** Вариант осуществления 7 представляет собой стабильную водную фармацевтическую композицию по варианту осуществления 1 или 1а, в которой биспецифическое антитело к ВСМА/CD3 имеет концентрацию от около 8 мг/мл до 15 около 12 мг/мл.

**[00141]** Вариант осуществления 8 представляет собой стабильную водную фармацевтическую композицию по варианту осуществления 7, в которой биспецифическое антитело к ВСМА/CD3 имеет концентрацию от около 9 мг/мл до около 11 мг/мл.

20 **[00142]** Вариант осуществления 9 представляет собой стабильную водную фармацевтическую композицию по варианту осуществления 8, в которой биспецифическое антитело к ВСМА/CD3 имеет концентрацию около 10 мг/мл.

**[00143]** Вариант осуществления 10 представляет собой стабильную водную фармацевтическую композицию по варианту осуществления 1 или 1а, в которой 25 биспецифическое антитело к ВСМА/CD3 имеет концентрацию от около 85 мг/мл до около 95 мг/мл.

**[00144]** Вариант осуществления 11 представляет собой стабильную водную фармацевтическую композицию по варианту осуществления 10, в которой биспецифическое антитело к ВСМА/CD3 имеет концентрацию от около 87 мг/мл до 30 около 93 мг/мл.

**[00145]** Вариант осуществления 12 представляет собой стабильную водную фармацевтическую композицию по варианту осуществления 11, в которой биспецифическое антитело к ВСМА/CD3 имеет концентрацию около 90 мг/мл.

- [00146]** Вариант осуществления 13 представляет собой стабильную водную фармацевтическую композицию по варианту осуществления 1 или 1a, содержащую от около 12 мМ до около 18 мМ ацетата и/или фармацевтически приемлемой ацетатной соли.
- 5 **[00147]** Вариант осуществления 14 представляет собой стабильную водную фармацевтическую композицию по варианту осуществления 1 или 1a, содержащую от около 14 мМ до около 16 мМ ацетата и/или фармацевтически приемлемой ацетатной соли.
- [00148]** Вариант осуществления 15 представляет собой стабильную водную
- 10 фармацевтическую композицию по варианту осуществления 1 или 1a, содержащую около 15 мМ ацетата и/или фармацевтически приемлемой ацетатной соли.
- [00149]** Вариант осуществления 16 представляет собой стабильную водную фармацевтическую композицию по варианту осуществления 1 или 1a, содержащую от около 7% (масс./об.) до около 9% (масс./об.) сахарозы.
- 15 **[00150]** Вариант осуществления 17 представляет собой стабильную водную фармацевтическую композицию по варианту осуществления 16, содержащую около 8% (масс./об.) сахарозы.
- [00151]** Вариант осуществления 18 представляет собой стабильную водную фармацевтическую композицию по варианту осуществления 1 или 1a, содержащую от
- 20 около 18 мкг/мл до около 22 мкг/мл EDTA.
- [00152]** Вариант осуществления 19 представляет собой стабильную водную фармацевтическую композицию по варианту осуществления 1 или 1a, содержащую около 20 мкг/мл EDTA.
- [00153]** Вариант осуществления 20 представляет собой стабильную водную
- 25 фармацевтическую композицию по варианту осуществления 1 или 1a, содержащую от около 0,02% до около 0,06% PS-20.
- [00154]** Вариант осуществления 21 представляет собой стабильную водную фармацевтическую композицию по варианту осуществления 20, содержащую от около 0,03 до около 0,05% PS-20.
- 30 **[00155]** Вариант осуществления 22 представляет собой стабильную водную фармацевтическую композицию по варианту осуществления 21, содержащую около 0,04% PS-20.

- [00156]** Вариант осуществления 23 представляет собой стабильную водную фармацевтическую композицию по варианту осуществления 1 или 1а, рН которой составляет от около 4,8 до около 5,6.
- 5 **[00157]** Вариант осуществления 24 представляет собой стабильную водную фармацевтическую композицию по варианту осуществления 23, рН которой составляет от около 4,9 до около 5,5.
- [00158]** Вариант осуществления 25 представляет собой стабильную водную фармацевтическую композицию по варианту осуществления 24, рН которой составляет около 5,2.
- 10 **[00159]** Вариант осуществления 26 представляет собой стабильную водную фармацевтическую композицию по варианту осуществления 1 или 1а, содержащую 10 мг/мл биспецифического антитела к ВСМА/CD3, 15 мМ ацетата и/или фармацевтически приемлемой ацетатной соли, 8% (масс./об.) сахарозы, 20 мкг/мл EDTA, 0,04% PS 20, с рН 5,2.
- 15 **[00160]** Вариант осуществления 27 представляет собой стабильную водную фармацевтическую композицию по варианту осуществления 1 или 1а, которая является стабильной при температуре около 2–8 °С в течение по меньшей мере двух лет.
- [00161]** Вариант осуществления 28 представляет собой стабильную водную фармацевтическую композицию по варианту осуществления 1 или 1а, стабильность
- 20 которой определяют на основании цвета раствора, рН, мутности, чистоты в процентах, процентного содержания новых пиков, процентного содержания основного компонента, процентного содержания высокомолекулярных соединений (HWMS), процентного содержания низкомолекулярных соединений (LMWS), процентного содержания суммы кислотных пиков, процентного содержания суммы щелочных
- 25 пиков, концентрации белка, процентного показателя активации Т-клеток, процентного содержания PS 20 (масс./об.) или любой их комбинации.
- [00162]** Вариант осуществления 29 представляет собой способ лечения рака у субъекта, нуждающегося в этом, в котором субъекту вводят стабильную водную фармацевтическую композицию по варианту осуществления 1 или 1а.
- 30 **[00163]** Вариант осуществления 30 представляет собой способ по варианту осуществления 29, в котором введение является подкожным.
- [00164]** Вариант осуществления 31 представляет собой способ получения стабильной водной фармацевтической композиции биспецифического антитела к антигену созревания В-клеток (ВСМА) / кластеру дифференцировки 3 (CD3) или его

антигенсвязывающего фрагмента, при этом биспецифическое антитело к ВСМА/CD3 или его антигенсвязывающий фрагмент содержит:

(1) первую тяжелую цепь (HC1), содержащую переменную область 1 (VH1) HC1,

5 причём VH1 содержит определяющую комплементарность область 1 тяжелой цепи (HCDR1), HCDR2 и HCDR3, имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 1, 2 и 3 соответственно;

(2) первую легкую цепь (LC1), содержащую переменную область (VL1) LC1,

10 причём VL1 содержит определяющую комплементарность область 1 легкой цепи (LCDR1), LCDR2 и LCDR3, имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 4, 5 и 6 соответственно;

(3) вторую тяжелую цепь (HC2), содержащую переменную область 2 (VH2) HC2,

15 причём VH2 содержит определяющую комплементарность область 1 тяжелой цепи (HCDR1), HCDR2 и HCDR3, имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 11, 12 и 13 соответственно; и

(4) вторую легкую цепь (LC2), содержащую переменную область 2 (VL2) LC2, причём VL2 содержит определяющую комплементарность область 1 легкой цепи (LCDR1), LCDR2 и LCDR3, имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 14, 15 и 16 соответственно;

25 способ включает объединение композиции, содержащей около 10 мг/мл биспецифического антитела к ВСМА/CD3, около 15 мМ ацетата и/или фармацевтически приемлемой ацетатной соли, около 8% (масс./об.) сахарозы, около 20 мг/мл EDTA и около 0,04% полисорбата (PS) 20, причём стабильная водная фармацевтическая композиция имеет рН около 5,2.

**[00165]** Вариант осуществления 31a представляет собой способ получения стабильной водной фармацевтической композиции биспецифического антитела к антигену созревания В-клеток (ВСМА) / кластеру дифференцировки 3 (CD3) или его антигенсвязывающего фрагмента, при этом биспецифическое антитело к ВСМА/CD3 или его антигенсвязывающий фрагмент содержит:

(1) первую тяжелую цепь (HC1), содержащую переменную область 1 (VH1) HC1,

причем VH1 содержит определяющую комплементарность область 1 тяжелой цепи (HCDR1), HCDR2 и HCDR3, имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 1, 2 и 3 соответственно;

(2) первую легкую цепь (LC1), содержащую вариабельную область (VL1) LC1,

причем VL1 содержит определяющую комплементарность область 1 легкой цепи (LCDR1), LCDR2 и LCDR3, имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 4, 5 и 6 соответственно;

(3) вторую тяжелую цепь (HC2), содержащую вариабельную область 2 (VH2) HC2,

причем VH2 содержит определяющую комплементарность область 1 тяжелой цепи (HCDR1), HCDR2 и HCDR3, имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 11, 12 и 13 соответственно; и

(4) вторую легкую цепь (LC2), содержащую вариабельную область 2 (VL2) LC2, причем VL2 содержит определяющую комплементарность область 1 легкой цепи (LCDR1), LCDR2 и LCDR3, имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 14, 15 и 16 соответственно;

способ включает объединение композиции, содержащей около 90 мг/мл

биспецифического антитела к BCMA/CD3, около 15 мМ ацетата и/или

фармацевтически приемлемой ацетатной соли, около 8% (масс./об.) сахарозы, около 20 мг/мл EDTA и около 0,04% полисорбата (PS) 20, причем стабильная водная фармацевтическая композиция имеет рН около 5,2.

**[00166]** Вариант осуществления 32 представляет собой способ по варианту осуществления 31 или 31а, в котором биспецифическое антитело к BCMA/CD3 содержит VH1, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 7, и VL1, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 8.

**[00167]** Вариант осуществления 33 представляет собой способ по варианту осуществления 31 или 31а, в котором биспецифическое антитело к BCMA/CD3 содержит HC, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 9, и LC1, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 10.

**[00168]** Вариант осуществления 34 представляет собой способ по варианту осуществления 31 или 31а, в котором биспецифическое антитело к BCMA/CD3

содержит VH2, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 17, и VL2, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 18.

5 **[00169]** Вариант осуществления 35 представляет собой способ по варианту осуществления 31 или 31a, в котором биспецифическое антитело к BCMA/CD3 содержит HC2, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 19, и LC2, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 20.

**[00170]** Вариант осуществления 36 представляет собой способ по варианту осуществления 31 или 31a, в котором биспецифическое антитело к BCMA/CD3 представляет собой теклистамаб.

10 **[00171]** Вариант осуществления 37 представляет собой набор, содержащий стабильную водную фармацевтическую композицию по варианту осуществления 1 и инструкции по применению.

**[00172]** Вариант осуществления 38 представляет собой изделие, содержащее контейнер со стабильной водной фармацевтической композицией по варианту осуществления 1 или 1a.

**[00173]** Вариант осуществления 39 представляет собой изделие по варианту осуществления 38, в котором контейнер представляет собой флакон с пробкой, прокалываемой шприцем.

20 **[00174]** Вариант осуществления 40 представляет собой стабильную водную фармацевтическую композицию по варианту осуществления 1 или 1a для применения в лечении рака.

**[00175]** Вариант осуществления 41 представляет собой стабильную водную фармацевтическую композицию по варианту осуществления 1 или 1a для применения в получении лекарственного препарата для лечения рака.

25 **[00176]** Вариант осуществления 42 представляет собой применение стабильной водной фармацевтической композиции по варианту осуществления 1 или 1a для лечения субъекта, нуждающегося в этом, включающее введение стабильной водной фармацевтической композиции субъекту, нуждающемуся в этом.

30 **[00177]** Вариант осуществления 43 представляет собой применение по варианту осуществления 42, в котором введение является подкожным.

## ПРИМЕРЫ

**[00178]** Представленные ниже примеры приведены для дополнительного описания некоторых из описанных в настоящем документе вариантов осуществления. Целью

примеров является иллюстрация, а не ограничение описанных вариантов осуществления.

**[00179] Описание аналитических тестов, используемых в настоящем документе**

**[00180] Аналитические тесты — общая характеристика**

5 **[00181] Цвет раствора**

**[00182]** Для лекарственного препарата отслеживают цвет раствора, чтобы оценить внешний вид и обеспечить его соответствие предыдущим партиям при выпуске и в течение срока годности. Цвет раствора может быть индикатором стабильности препарата. Для определения цвета раствора тестируемые образцы визуально  
10 сравнивают с определенным набором эталонных растворов.

**[00183]** Заданный объем жидкого содержимого переносят в предварительно маркированную ампулу тех же размеров, что и ампулы с эталонными растворами. Затем содержимое ампулы визуальнo сравнивают с цветными эталонными растворами Европейской фармакопеи. Степень окрашивания определяют при рассеянном дневном  
15 свете, производя осмотр на белом фоне.

**[00184] Цвет раствора, материал и способы**

**[00185]** Материалы и способы соответствуют описанию в статье 2.2.2 Европейской фармакопеи «Степень окрашивания жидкостей», European Pharmacopoeia (Ph. Eur.) 10th Edition monograph number 20202, July 2019. Если говорить вкратце, тестируемые  
20 препараты сравнивают с наборами цветных эталонных растворов В (коричневый), ВУ (коричневато-желтый) и Y (желтый).

**[00186] Результаты определения цвета раствора отражают стабильность.** В одном варианте осуществления стабильность определяется по цвету раствора от бесцветного до около ВУ2 или менее, около В2 или менее, около Y2 или менее после хранения в течение около 12 месяцев или более и при температуре около 5 °С, после хранения в течение около 12 месяцев или более и при температуре около 25 °С и/или после хранения в течение около 2 лет или более и при температуре около 5 °С.

В предпочтительном варианте осуществления определяется по цвету раствора от бесцветного до около ВУ4 или менее, до около В4 или менее, до около Y4 или менее  
30 после хранения в течение около 12 месяцев или более и при температуре около 5 °С, после хранения в течение около 12 месяцев или более и при температуре около 25 °С и/или после хранения в течение около 2 лет или более и при температуре около 5 °С.

В наиболее предпочтительном варианте осуществления стабильность определяется по цвету раствора от бесцветного до около ВУ5 или менее, до около В5 или менее, до

около Y5 или менее после хранения в течение около 12 месяцев или более и при температуре около 5 °С, после хранения в течение около 12 месяцев или более и при температуре около 25 °С и/или после хранения в течение около 2 лет или более и при температуре около 5 °С.

5 **[00187] pH**

**[00188] pH, материалы и способы.** Ежедневно калибруемый электронный pH-метр со стандартизированным pH-электродом применяют для измерения pH тестируемых изделий. Перед тестированием все калибровочные растворы, эталонные буферы и тестируемые препараты доводят до равновесного состояния при 25 °С и во время его проведения поддерживают при этой температуре.

10 **[00189] Результаты измерения pH отражают стабильность.** В одном варианте осуществления стабильность определяют как значение pH в диапазоне от 4,7 до около 5,7 после хранения в течение около 12 месяцев или более и при температуре около 5 °С, после хранения в течение около 12 месяцев или более и при температуре около 25 °С и/или после хранения в течение около 2 лет или более и при температуре около 5 °С.

15 В предпочтительном варианте осуществления стабильность определяют как значение pH в диапазоне от 4,8 до около 5,6 после хранения в течение около 12 месяцев или более и при температуре около 5 °С, после хранения в течение около 12 месяцев или более и при температуре около 25 °С и/или после хранения в течение около 2 лет или более и при температуре около 5 °С. В наиболее предпочтительном варианте осуществления стабильность определяют как значение pH в диапазоне от 4,9 до около 5,5 после хранения в течение около 12 месяцев или более и при температуре около 5 °С, после хранения в течение около 12 месяцев или более и при температуре около 25 °С и/или после хранения в течение около 2 лет или более и при температуре около 5 °С.

20 **[00190] Мутность**

**[00191] Мутность, материалы и способы.** Материалы и способы основаны на требованиях в статье 2.2.1 Европейской фармакопеи «Прозрачность и степень опалесценции жидкостей».

25 **[00192] Результаты измерения мутности отражают стабильность.** Результаты тестирования представлены в нефелометрических единицах мутности (НЕМ). В одном варианте осуществления стабильность определяется как значение мутности около 30 18 NTU или менее после хранения в течение около 12 месяцев или более и при температуре около 5 °С, после хранения в течение около 12 месяцев или более и при температуре около 25 °С и/или после хранения в течение около 2 лет или более и при

температуре около 5 °С. В предпочтительном варианте осуществления стабильность определяют как значение мутности около 13 NTU или менее после хранения в течение около 12 месяцев или более и при температуре около 5 °С, после хранения в течение около 12 месяцев или более и при температуре около 25 °С и/или после хранения в течение около 2 лет или более и при температуре около 5 °С. В наиболее предпочтительном варианте осуществления стабильность определяется как значение мутности около 8 NTU или менее после хранения в течение около 12 месяцев или более и при температуре около 5 °С, после хранения в течение около 12 месяцев или более и при температуре около 25 °С и/или после хранения в течение около 2 лет или более и при температуре около 5 °С.

**[00193] Аналитические тесты — твердые частицы**

**[00194] Твердые частицы (невидимые), материалы и способы.** Все материалы и способы соответствуют требованиям в статье <788> Фармакопеи США «Твердые частицы». Применяют соответствующий фармакопейным требованиям счетчик частиц в жидкости, оснащенный установкой для отбора проб по объему согласно Фармакопее. Перед тестированием тестируемые частицы доводят до равновесного состояния при комнатной температуре в течение по меньшей мере 60 минут, но не более 10 часов. Флаконы с тестируемыми частицами объединяют в соответствии с требованиями статьи <788> Фармакопеи США «Твердые частицы». В соответствии с инструкциями в статье <788> Фармакопеи США «Твердые частицы» отбирают четыре порции объединенного тестируемого препарата, каждая соответствующего объема, и в каждой порции подсчитывают число частиц с размером, равным или превышающим 10 мкм и 25 мкм. Результаты, полученные для первой порции, не учитывают, а оставшиеся три результата используют для расчета среднего числа частиц для исследуемого препарата.

**[00195] Анализ на содержание частиц (невидимых), результаты, соответствующие требованиям Фармакопеи.** Результаты тестирования должны соответствовать требованиям в статье <788> Фармакопеи США «Твердое вещество», в статье 2.9.19 Европейской фармакопеи и в статье XVII/6.07 Японской фармакопеи «Загрязнение частицами: частицы, невидимые невооруженным глазом». Как таковое среднее число частиц, присутствующих в тестируемых единицах, не должно превышать 6000 частиц на контейнер для размера частиц, равного 10 мкм или более, и не должно превышать 600 частиц на контейнер для размера частиц, равного 25 мкм или более.

**[00196] Аналитические тесты — чистота**

**[00197] Капиллярный электрофорез в присутствии додецилсульфата натрия (кДСН) в восстанавливающих условиях**

**[00198] кДСН в восстанавливающих условиях, материалы и способы.** Для анализа

5 используют коммерческую систему капиллярного электрофореза с оголенным капилляром из плавленого кварца, 50 мкм (внутренний диаметр) x 30,2 см (длина), в картридже с регулируемой температурой; капилляр оснащен окном обнаружения, прозрачным для ультрафиолетового света. Перед каждым введением капилляр промывают электрокинетически. Перед каждым анализом образца капилляр загружают  
10 просеивающей матрицей, состоящей из раствора запутанного полимера. В рамках способа применяют буфер для миграции SDS-MW Gel и сертифицированные стандарты молекулярной массы белков, варьирующиеся в диапазоне от приблизительно 10 до 148 кДа. Детектор ультрафиолетового абсорбционного спектрофотометра прибора установлен на длину волны 220 нм, и температура капилляра установлена на 25 °С. Для  
15 создания восстанавливающих условий обработки образца тестируемый препарат (в двух экземплярах) смешивают с ДСН и 2-меркаптоэтанолом и затем нагревают в течение определенного времени и при определенной температуре для полной денатурации и восстановления белка. Восстановленный образец вводят электрокинетически, посредством подачи на капилляр напряжения 5 кВ в течение  
20 приблизительно 20 секунд, и затем анализируют посредством подачи большего электрического поля в течение приблизительно 35 минут. Детекцию осуществляют по поглощению в дальней ультрафиолетовой области спектра, 220 нм. Данные о процентном показателе общего сигнала собирают для легкой цепи, тяжелой цепи и гликозилированной тяжелой цепи (AG HC).

25 **[00199] Результаты кДСН в восстанавливающих условиях отражают стабильность.**

В одном варианте осуществления стабильность определяют как значение процентной чистоты  $\geq 90,0\%$  и отсутствие нового пика  $> 1,5\%$  по сравнению с валидированным маточным раствором эталонного материала теклистамаба после хранения в течение около 12 месяцев или более и при температуре около 5 °С, после хранения в течение  
30 около 12 месяцев или более и при температуре около 25 °С и/или после хранения в течение около 2 лет или более и при температуре около 5 °С. В предпочтительном варианте осуществления стабильность определяют как значение процентной чистоты около или более 95,0% и отсутствие нового пика более 1,2% по сравнению с эталонным материалом после хранения в течение около 12 месяцев или более и при температуре

около 5 °С, после хранения в течение около 12 месяцев или более и при температуре около 25 °С и/или после хранения в течение около 2 лет или более и при температуре около 5 °С. В наиболее предпочтительном варианте осуществления стабильность определяют как значение процентной чистоты около или более 97,0% и отсутствие нового пика более 1,0% по сравнению с эталонным материалом после хранения в течение около 12 месяцев или более и при температуре около 5 °С, после хранения в течение около 12 месяцев или более и при температуре около 25 °С и/или после хранения в течение около 2 лет или более и при температуре около 5 °С.

**[00200] Капиллярный электрофорез в присутствии додецилсульфата натрия (кДСН) в невосстанавливающих условиях**

**[00201] кДСН в невосстанавливающих условиях, материалы и способы.** Для анализа используют коммерческую систему капиллярного электрофореза с оголенным капилляром из плавленного кварца, 50 мкм (внутренний диаметр) x 30,2 см (длина), в картридже с регулируемой температурой; капилляр оснащен окном обнаружения, прозрачным для ультрафиолетового света. Перед каждым введением капилляр промывают электрокинетически. Перед каждым анализом образца капилляр загружают просеивающей матрицей, состоящей из раствора запутанного полимера. В способе используют буфер для миграции SDS-MW Gel, сертифицированные стандарты молекулярной массы белков, варьирующиеся в диапазоне от приблизительно 10 до 148 кДа, и образец валидированного эталонного материала теклистамаба. Детектор ультрафиолетового абсорбционного спектрофотометра прибора установлен на длину волны 220 нм, и температура капилляра установлена на 25 °С. Для создания невосстанавливающих условий обработки образца тестируемый препарат (в двух экземплярах) смешивают с ДСН и алкилирующим реагентом (N-этилмалеимидом, для предотвращения перестановки или реформации дисульфидных связей). Затем его нагревают в течение определенного времени и при определенной температуре, чтобы полностью денатурировать белок и минимизировать образование фрагментов и артефактных полос. Невосстановленный образец вводят электрокинетически, посредством подачи на капилляр напряжения 5 кВ в течение приблизительно 20 секунд, и затем анализируют посредством подачи большего электрического поля в течение приблизительно 35 минут. Детекцию осуществляют по поглощению в дальней ультрафиолетовой области спектра, 220 нм. Собирают данные о процентном показателе общего сигнала. Данные также анализируют на наличие новых пиков по сравнению с

эталонным материалом теклистамабом. Процентная чистота определяется как процентный показатель тяжелой цепи + процентный показатель легкой цепи.

**[00202] Результаты кДСН в невосстанавливающих условиях отражают стабильность.**

В одном варианте осуществления стабильность определяют как значение процентной чистоты около 90,0% или более и отсутствие нового пика более 1,5% по сравнению с эталонным материалом после хранения в течение около 12 месяцев или более и при температуре около 5 °С, после хранения в течение около 12 месяцев или более и при температуре около 25 °С и/или после хранения в течение около 2 лет или более и при температуре около 5 °С. В предпочтительном варианте осуществления стабильность определяют как значение процентной чистоты около 95,0% или более и отсутствие нового пика более 1,2% по сравнению с эталонным материалом после хранения в течение около 12 месяцев или более и при температуре около 5 °С, после хранения в течение около 12 месяцев или более и при температуре около 25 °С и/или после хранения в течение около 2 лет или более и при температуре около 5 °С. В наиболее предпочтительном варианте осуществления стабильность определяют как значение процентной чистоты около 97,0% или более и отсутствие нового пика более 1,0% по сравнению с эталонным материалом после хранения в течение около 12 месяцев или более и при температуре около 5 °С, после хранения в течение около 12 месяцев или более и при температуре около 25 °С и/или после хранения в течение около 2 лет или более и при температуре около 5 °С.

**[00203] Эксклюзионная высокоэффективная жидкостная хроматография (эВЭЖХ)**

**[00204] эВЭЖХ, материалы и способы.** Эталонный материал и тестируемые препараты разбавляют до целевой концентрации белка. Аналит объемом 20 мкл подают на эксклюзионную колонку 7,8 мм x 30 см на основе силикагеля с размером частиц 5 мкм, с диапазоном фракционирования от 10 до 500 кДа. В качестве подвижной фазы используют водный фосфатный буфер при скорости потока 0,7 мл/мин, а поглощение элюата непрерывно отслеживают при 280 нм. Мономер (основной компонент или главный пик), агрегаты (высокомолекулярные соединения или HMWS) и фрагменты (низкомолекулярные соединения или LMWS) разделяются на колонке и элюируются с разными временами удержания. Количество этих соединений измеряют посредством контроля пика поглощения при 280 нм.

**[00205]** Результаты эВЭЖХ отражают стабильность**[00206]** *Основной компонент.* В одном варианте осуществления стабильность

определяют как значение доли основного компонента около 90,0% или более после хранения в течение около 12 месяцев или более и при температуре около 5 °С, после

5 хранения в течение около 12 месяцев или более и при температуре около 25 °С и/или после хранения в течение около 2 лет или более и при температуре около 5 °С. В

предпочтительном варианте осуществления стабильность определяют как наличие основного компонента около 95,0% или более после хранения в течение около 12

10 месяцев или более и при температуре около 5 °С, после хранения в течение 12 месяцев или более и при температуре около 25 °С и/или после хранения в течение около 2 лет

или более и при температуре около 5 °С. В наиболее предпочтительном варианте

осуществления стабильность определяют как наличие основного компонента около

15 97,0% после хранения в течение около 12 месяцев или более и при температуре около 5 °С, после хранения в течение около 12 месяцев или более и при температуре около

25 °С и/или после хранения в течение около 2 лет или более и при температуре около 5 °С.

**[00207]** *Высокомолекулярные соединения (HMWS).* В одном варианте осуществления

стабильность определяют как значение доли HMWS около 10,0% или менее после

20 хранения в течение около 12 месяцев или более и при температуре около 5 °С, после хранения в течение около 12 месяцев или более и при температуре около 25 °С и/или

после хранения в течение около 2 лет или более и при температуре около 5 °С.

В предпочтительном варианте осуществления стабильность определяют как значение

25 доли HMWS около 5,0% или менее после хранения в течение около 12 месяцев или

более и при температуре около 5 °С, после хранения в течение около 12 месяцев или

30 более и при температуре около 25 °С и/или после хранения в течение около 2 лет или

более и при температуре около 5 °С. В наиболее предпочтительном варианте

осуществления стабильность определяют как значение доли HMWS около 3,0% или

менее после хранения в течение около 12 месяцев или более и при температуре около

5 °С, после хранения в течение около 12 месяцев или более и при температуре около

30 25 °С и/или после хранения в течение около 2 лет или более и при температуре около

5 °С.

**[00208]** *Низкомолекулярные соединения (LMWS).* В одном варианте осуществления

стабильность определяют как значение доли LMWS около 5,0% или менее после

хранения в течение около 12 месяцев или более и при температуре около 5 °С, после

хранения в течение около 12 месяцев или более и при температуре около 25 °С и/или после хранения в течение около 2 лет или более и при температуре около 5 °С.

В предпочтительном варианте осуществления стабильность определяют как значение доли LMWS около 2,0% или менее после хранения в течение около 12 месяцев или более и при температуре около 5 °С, после хранения в течение около 12 месяцев или более и при температуре около 25 °С и/или после хранения в течение около 2 лет или более и при температуре около 5 °С. В наиболее предпочтительном варианте осуществления стабильность определяют как значение доли LMWS около 1,0% или менее после хранения в течение около 12 месяцев или более и при температуре около 5 °С, после хранения в течение около 12 месяцев или более и при температуре около 25 °С и/или после хранения в течение около 2 лет или более и при температуре около 5 °С.

**[00209] Капиллярное изоэлектрическое фокусирование (КИЭФ)**

**[00210] КИЭФ, материалы и способы.** Аналитическую процедуру проводят на коммерчески доступном анализаторе КИЭФ с визуализацией, оснащенном автоматическим пробоотборником. Для анализа используют капилляр размером 100 мкм с покрытием на кварцевой внутренней стенке и полиимидным покрытием на наружной стенке. Дополнительно используют раствор анодного электролита из разбавленной фосфорной кислоты и метилцеллюлозы, раствор катодного электролита из гидроксида натрия и метилцеллюлозы и определенный тип и количество амфолитов. Тестируемые препараты обрабатывают карбоксипептидазой В (СРВ) для удаления С-концевого лизина и устранения вариабельностей, возникающих из-за наличия нескольких С-концевых вариантов для каждой заряженной молекулы. Автоматический пробоотборник прибора установлен на 4 °С как для предварительной фокусировки, так и для фокусировки. Напряжение и время предварительной фокусировки составляют 1500 В и 1 минуту соответственно. Напряжение и время фокусировки составляют 3000 В и 7 минут соответственно.

**[00211] Результаты КИЭФ отражают стабильность**

**[00212] *Главный пик.*** В одном варианте осуществления стабильность определяют как величину главного пика  $\leq 60\%$  после хранения в течение около 12 месяцев или более и при температуре около 5 °С, после хранения в течение около 12 месяцев или более и при температуре около 25 °С и/или после хранения в течение около 2 лет или более и при температуре около 5 °С. В предпочтительном варианте осуществления стабильность определяют как величину главного пика  $\leq 65\%$  после хранения в течение



щелочных пиков около  $\leq 8\%$  после хранения в течение около 12 месяцев или более и при температуре около  $5\text{ }^{\circ}\text{C}$ , после хранения в течение около 12 месяцев или более и при температуре около  $25\text{ }^{\circ}\text{C}$  и/или после хранения в течение около 2 лет или более и при температуре около  $5\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

5 **[00215] Аналитические тесты — количество**

**[00216] Концентрация белка по A280**

**[00217]** Концентрацию белка в лекарственном препарате устанавливают посредством количественного определения поглощения при 280 нм (A280).

**[00218] Определение концентрации белка по величине A280, материалы и способы**

10 **[00219]** Измерение концентрации белка проводят с применением

квалифицированного и откалиброванного двухлучевого спектрофотометра UV-Vis.

Тестируемые препараты разводят в соотношении 1 : 125 с использованием 0,9%

(масс./об.) NaCl. Для измерения образцов используют кварцевые полумикрокюветы

(1,4 мл) с длиной оптического пути 1 см и черными или матовыми боковыми стенками.

15 Спектрофотометр настроен на длину волны 280 нм, ширину щели 1 нм и отклик в одну

(1) секунду. В качестве холостого контроля используют 0,9% (масс./об.) NaCl.

Концентрацию белка (мг/мл) рассчитывают делением произведения значения

поглощения тестируемого препарата и коэффициента разведения на произведение

константы поглощения антитела и длины пути прибора (например, без ограничений,

20 константы поглощения теклистамаба  $1,58\text{ (мг/мл)}^{-1}\text{ см}^{-1}$  и длины пути прибора 1 см).

**[00220] Результаты измерения концентрации белка в составе 10 мг/мл, отражающие стабильность**

**[00221]** В одном варианте осуществления стабильность определяют как значение

концентрации белка от 7,5 до 12,5 мг/мл после хранения в течение около 12 месяцев

25 или более и при температуре около  $5\text{ }^{\circ}\text{C}$ , после хранения в течение около 12 месяцев

или более и при температуре около  $25\text{ }^{\circ}\text{C}$  и/или после хранения в течение около 2 лет

или более и при температуре около  $5\text{ }^{\circ}\text{C}$ . В предпочтительном варианте осуществления

стабильность определяют как значение концентрации белка от 8 до 12 мг/мл после

хранения в течение около 12 месяцев или более и при температуре около  $5\text{ }^{\circ}\text{C}$ , после

30 хранения в течение около 12 месяцев или более и при температуре около  $25\text{ }^{\circ}\text{C}$  и/или

после хранения в течение около 2 лет или более и при температуре около  $5\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

В наиболее предпочтительном варианте осуществления стабильность определяют как

значение концентрации белка от 9 мг/мл до 11 мг/мл после хранения в течение около

12 месяцев или более и при температуре около  $5\text{ }^{\circ}\text{C}$ , после хранения в течение около

12 месяцев или более и при температуре около 25 °С и/или после хранения в течение около 2 лет или более и при температуре около 5 °С.

**[00222]** Результаты измерения концентрации белка в составе 90 мг/мл, отражающие стабильность

5 **[00223]** В одном варианте осуществления стабильность определяется как значение концентрации белка от 76,5 до 103,5 мг/мл после хранения в течение около 12 месяцев или более и при температуре около 5 °С, после хранения в течение около 12 месяцев или более и при температуре около 25 °С и/или после хранения в течение около 2 лет или более и при температуре около 5 °С. В предпочтительном варианте осуществления стабильность определяется как значение концентрации белка от 85 до 95 мг/мл после хранения в течение около 12 месяцев или более и при температуре около 5 °С, после хранения в течение около 12 месяцев или более и при температуре около 25 °С и/или после хранения в течение около 2 лет или более и при температуре около 5 °С.

10 В наиболее предпочтительном варианте осуществления стабильность определяется как значение концентрации белка от 87 мг/мл до 93 мг/мл после хранения в течение около 12 месяцев или более и при температуре около 5 °С, после хранения в течение около 12 месяцев или более и при температуре около 25 °С и/или после хранения в течение около 2 лет или более и при температуре около 5 °С.

**[00224]** Аналитические тесты — **эффективность**

20 **[00225]** **Эффективность (активность в отношении ВСМАхCD3 Т-клеток)**

**[00226]** Активация Т-клеток *in vitro* с помощью ВСМАхCD3 продемонстрирована с использованием анализа люминесценции, опосредованной ядерным фактором активированных Т-клеток — ответным элементом (NFAT-RE)

25 **[00227]** В данном репортерном анализе используется люминесценция, индуцированная активацией пути NFAT (ядерного фактора активированных Т-клеток) в сконструированных эффекторных клетках, экспрессирующих CD3, в качестве считываемых данных о совместном вовлечении клеток-мишеней / эффекторных клеток, и данный анализ является косвенным показателем уничтожения клеток-мишеней. В качестве клеток-мишеней используют В-лимфобластные клетки Дауди, которые  
30 экспрессируют ВСМА на своей клеточной поверхности. Для активации Т-клеток и последующей люминесценции, опосредованной NFAT-RE, требуется взаимодействие как области Fab против ВСМА с клетками-мишенями, экспрессирующими ВСМА, так и области Fab против CD3 с генетически сконструированными CD3+ Т-клетками.

**[00228]** Материалы и методы для активации ВСМАхCD3 Т-клеток. В качестве эталонного материала и контрольных образцов используют сертифицированный теклистамаб. Получают растворы эффекторных клеток Юркат TCR/CD3 в концентрации  $1,0 \times 10^6$  жизнеспособных клеток/мл в культуральной среде (4% термоинактивированной эмбриональной бычьей сыворотки в RPMI) и раствор В-лимфобластных клеток-мишеней Дауди в концентрации  $4 \times 10^5$  жизнеспособных клеток/мл в клеточной культуральной среде. Равные объемы эффекторных клеток и клеток-мишеней аликвотируют в отдельные лунки 96-луночного планшета для культивирования клеток. Затем инкубируют планшет при  $37 \text{ }^\circ\text{C}$  ( $\pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$ ) с  $5\%$  ( $\pm 2\%$ )  $\text{CO}_2$  в течение 16–24 часов. После инкубации в каждую лунку добавляют субстрат люциферазы Bio-GloTM и перемешивают с умеренной скоростью на планшетном шейкере в течение по меньшей мере 5 минут. В пределах 30 минут после добавления субстрата измеряют люминесценцию (значения в относительных световых единицах (RLU)) с помощью микротитровального люминесцентного сканера для планшетов.

15 Данные записывают как процент биологической активности относительно эталонного материала.

**[00229]** Результаты активации ВСМАхCD3 Т-клеток, отражающие стабильность. В одном варианте осуществления стабильность определяют как значение биологической активности  $50\%$ – $150\%$  относительно эталонного материала после хранения в течение около 12 месяцев или более и при температуре около  $5 \text{ }^\circ\text{C}$ , после хранения в течение около 12 месяцев или более и при температуре около  $25 \text{ }^\circ\text{C}$  и/или после хранения в течение около 2 лет или более и при температуре около  $5 \text{ }^\circ\text{C}$ .

20 В предпочтительном варианте осуществления стабильность определяют как значение биологической активности  $60\%$ – $140\%$  относительно эталонного материала после хранения в течение около 12 месяцев или более и при температуре около  $5 \text{ }^\circ\text{C}$ , после хранения в течение около 12 месяцев или более и при температуре около  $25 \text{ }^\circ\text{C}$  и/или после хранения в течение около 2 лет или более и при температуре около  $5 \text{ }^\circ\text{C}$ .

25 В наиболее предпочтительном варианте осуществления стабильность определяют как значение биологической активности в диапазоне от около  $80\%$  до  $120\%$  относительно эталонного материала после хранения в течение около 12 месяцев или более и при температуре около  $5 \text{ }^\circ\text{C}$ , после хранения в течение около 12 месяцев или более и при температуре около  $25 \text{ }^\circ\text{C}$  и/или после хранения в течение около 2 лет или более и при температуре около  $5 \text{ }^\circ\text{C}$ .

30

**[00230] Аналитические тесты — поверхностно-активное вещество****[00231] Количественное определение полисорбата-20**

**[00232]** Полисорбат 20 количественно определяют посредством ионообменной/гидрофобной ВЭЖХ в смешанном режиме.

5 **[00233]** PS 20, материалы и способы. Анализ проводят с помощью прибора для градиентной ВЭЖХ, оснащенного встроенной колонкой  $2,1 \times 20$  мм, содержащей смачиваемые водой полимерные сферические частицы сорбента для смешанного режима диаметром 30 мкм, испарительным детектором светорассеяния (ELSD) и отсеком колонки с регулируемой температурой, установленной на 30 °С. Скорость  
10 потока установлена на 1 мл/минуту, а температура испарителя ELSD установлена на 50 °С. Подвижная фаза А представляет собой 2% (об./об.) муравьиной кислоты в воде, а подвижная фаза В представляет собой 2% (об./об.) муравьиной кислоты в  
изопропиловом спирте. Для создания калибровочных и эталонных стандартов используют чистый полисорбат 20. Образцы тестируемых препаратов вводят в чистом  
15 виде.

**[00234]** Результаты измерения концентрации полисорбата 20, отражающие стабильность. В одном варианте осуществления стабильность определяют как значение концентрации PS20 0,01–0,07% после хранения в течение около 12 месяцев или более и при температуре около 5 °С, после хранения в течение около 12 месяцев или более и  
20 при температуре около 25 °С и/или после хранения в течение около 2 лет или более и при температуре около 5 °С. В предпочтительном варианте осуществления стабильность определяют как значение концентрации PS 20 0,02–0,06% после хранения в течение около 12 месяцев или более и при температуре около 5 °С, после хранения в течение около 12 месяцев или более и при температуре около 25 °С и/или после  
25 хранения в течение около 2 лет или более и при температуре около 5 °С. В наиболее предпочтительном варианте осуществления стабильность определяют как значение концентрации PS 20 0,03–0,05% после хранения в течение около 12 месяцев или более и при температуре около 5 °С, после хранения в течение около 12 месяцев или более и при температуре около 25 °С и/или после хранения в течение около 2 лет или более и  
30 при температуре около 5 °С.

**[00235] Аналитические тесты — описание процедур****[00236] Пептидная карта**

**[00237]** Цель этого теста — измерить уровни посттрансляционных модификаций, таких как окисление, дезамидирование и изомеризация, которые могут присутствовать

в структуре антитела. Тестируемые препараты подвергают ферментативному расщеплению для получения пептидных сегментов. Затем эти пептиды оценивают посредством сверхвысокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-

5 последовательность идентифицируют относительно ее известного положения в общей структуре антитела. Посттрансляционные модификации определяют путем сравнения измеренной массы идентифицированной пептидной последовательности с ее ожидаемой массой.

**[00238]** Пептидное картирование, материалы и способы. Образцы денатурируют 6 М гуанидином, 50 мМ Трис с pH 8,0, 5 мМ EDTA и фильтруют с помощью центрифужного фильтра с концентратом 30 кДа (фильтрат отбрасывают). Денатурированные образцы восстанавливают 1 М дитиотреитола (ДТТ) с последующим алкилированием 1 М иодоацетата натрия и дополнительно обрабатывают ДТТ для остановки реакции. Реакционную смесь подвергают обмену в 15 буфере для расщепления (50 мМ Трис с pH 7,0, с 1 мМ CaCl<sub>2</sub>) на колонках Sephadex G-25, используя отдельные колонки для холостых проб, эталонного материала и тестируемых изделий. Аликвоту маточного раствора трипсина 1 мг/мл добавляют к образцу в буфер для расщепления, что обеспечивает концентрацию трипсина 20 мкл/мл. Раствор инкубируют при 37 °С в течение 2 часов ± 30 минут.

20 Обработанному трипсином раствору позволяют остыть до комнатной температуры и инактивируют фермент трифторуксусной кислотой. Обработанные образцы оценивают с помощью прибора для сверхвысокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрией (СВЭЖХ-МС), оснащенного колонкой Waters Acquity BEH (Ethylene Bridged Hybrid) C18, 2,1 x 100 мм, 1,7 мкм, 130 Å, и присоединенным автоматическим

25 пробоотборником. Подвижная фаза А представляет собой 0,1% муравьиной кислоты (FA) в воде. Подвижная фаза В представляет собой 0,1% FA в ацетонитриле (подвижная фаза В). Автоматический пробоотборник установлен на 2–8 °С, колонка установлена на 40 °С, а скорость потока установлена на 500 мкл/минуту. Элюированные пептиды подвергают ионизации электрораспылением, а их детекцию осуществляют с помощью

30 калиброванного прибора для онлайн-масс-спектрометрии.

**[00239] Пример 1. Ранние скрининговые исследования составов**

**[00240]** Ранние скрининговые исследования составов были разработаны для оценки влияния pH, типа буфера, поверхностно-активного вещества и стабилизаторов на химическую, физическую и биологическую стабильность растворов теклистамаба. В

процессе исследовательской работы было определено более широкое пространство проектных параметров для разработки состава, включая ацетатный буфер в пределах диапазона pH от 4,5 до 5,4 и гистидиновый буфер в пределах диапазона pH от 5,4 до 6,4. Состав был ориентирован на pH 5,2 в ацетатном буфере и pH 6,0 в гистидиновом буфере, чтобы иметь достаточную буферную емкость в последующем подтверждающем исследовании стабильности. В ходе первоначальной оценки пригодности для разработки главного антитела к ВСМАхCD3 было отмечено, что воздействие чрезмерных уровней железа коррелирует с увеличением агрегации, измеренным с помощью эксклюзионной хроматографии (SEC). По этой причине в состав добавляли EDTA.

**[00241]** На основании скрининговых исследований составов оценивали стабильность при хранении двух составов, перечисленных ниже:

1. 10 мг/мл теклистамаба в 10 мМ ацетата, 8% (масс./об.) сахарозы, 20 мг/мл EDTA, 0,04% (масс./об.) PS 20, pH 5,2.
2. 10 мг/мл теклистамаба в 10 мМ гистидина, 8% (масс./об.) сахарозы, 20 мг/мл EDTA, 0,04% (масс./об.) PS 20, pH 6,0.

**[00242]** Эти два состава исследовали на стабильность при хранении при 2–8 °С, 25 °С и 37 °С. Результаты исследования показали отсутствие значимых изменений стабильности каждого состава при измерении с помощью кДСН (в восстанавливающих и невосстанавливающих условиях), а также с помощью КИЭФ (данные не показаны). Результаты эксклюзионной хроматографии (эВЭЖХ) показали отсутствие потери содержания основного компонента после хранения в течение 6 месяцев при 2–8 °С в каждом составе. Однако при повышенных температурах хранения наблюдались различия, особенно при 37 °С в течение 3 месяцев и при 25 °С в течение 6 месяцев. Состав с гистидиновым буфером продемонстрировал большую потерю основного компонента при 25 °С и 37 °С по сравнению с составом с ацетатным буфером (ФИГ. 1). Эти результаты показали, что теклистамаб был более стабильным в составе с ацетатным буфером при pH 5,2.

**[00243]** Для исследования стабильности составов с более высокими концентрациями теклистамаба два состава, которые содержали 30 мг/мл и 90 мг/мл теклистамаба соответственно, оставляли в условиях испытания стабильности при 2–8 °С и 25 °С на срок до двух лет. Целевая композиция представляла собой 10 мМ ацетата, 8% (масс./об.) сахарозы, 20 мкг/мл динатриевой EDTA, 0,04% (масс./об.) PS 20 при pH 5,2 для составов как 30, так и 90 мг/мл. Данные сравнивали с составом 10 мг/мл с такой же

целевой композицией. Составы анализировали на содержание основного компонента, агрегатов и фрагментов с помощью эВЭЖХ, на чистоту с помощью кДСН (в восстанавливающих и невосстанавливающих условиях), на гетерогенность заряда с помощью кИЭФ и на невидимые твердые частицы с помощью светоблокировки (LO).

5 **[00244]** Для данных, полученных с помощью кИЭФ и кДСН (в восстанавливающих и невосстанавливающих условиях), а также с помощью подсчета невидимых частиц (данные не показаны), существенных изменений не наблюдалось.

10 **[00245]** Данные эВЭЖХ (таблица 2) демонстрируют небольшую, но существующую корреляцию между повышенной концентрацией белка и пониженным содержанием основного компонента. Однако величина снижения наблюдалась в узком диапазоне, причем при всех концентрациях белка продемонстрированы значения основного компонента, согласующиеся с наиболее предпочтительным вариантом осуществления.

**Таблица 2. Данные эВЭЖХ для составов 10, 30 и 90 мг/мл**

Момент времени (месяцы)	Основной компонент (%)					
	10 мг/мл		30 мг/мл		90 мг/мл	
	2–8 °С	25 °С	2–8 °С	25 °С	2–8 °С	25 °С
T <sub>0</sub>	99,2	99,2	99,2	99,2	98,9	98,9
1	99,2	99,2	99,0	98,8	98,6	98,1
2	99,4	99,0	Н/П	98,6	Н/П	97,9
3	99,3	98,8	99,0	98,6	98,4	97,9
5 <sup>a</sup>	99,1	98,2	98,8	98,4	98,3	97,4
12	99,2	Н/П	98,8	Н/П	98,2	Н/П
18	99,2	Н/П	98,7	Н/П	98,1	Н/П
24	99,1	Н/П	98,7	Н/П	98,0	Н/П

<sup>a</sup> отбор образцов состава 10 мг/мл осуществляли в момент времени 6 месяцев  
Н/П = не применимо

15 **[00246]** По завершении ранних скрининговых исследований составов изменяли концентрацию ацетата с 10 до 15 мМ.

**[00247] Пример 2. Встряхивание в диапазоне концентраций полисорбата**

20 **[00248]** Для определения уровней полисорбата 20 (PS 20) в составе с ацетатом проводили два исследования стресса при встряхивании. В первом пилотном исследовании оценивали влияние механического стресса на 1 мг/мл теклистамаба в 10 мМ ацетата, 8% (масс./об.) сахарозы, 20 мкг/мл EDTA при pH 5,2 с добавлением 0, 0,01, 0,02, 0,04 или 0,06% (масс./об.) PS20. Испытуемые составы помещали в шейкер на орбитальной платформе, встряхивали при 250 об/мин в течение 120 часов при температуре окружающей среды. SEC-анализ образцов после встряхивания показал, что образцы без PS20 демонстрировали менее 30% мономера и более 70% агрегата. Это

указывает на то, что использованные в исследовании условия испытания вызывали достаточный механический стресс, чтобы вызвать катастрофическую потерю стабильности ЛП. Добавление PS20 резко увеличило содержание мономера и уменьшило образование агрегатов, при этом концентрация PS20 0,02% (масс./об.) демонстрирует уровни содержания мономера и агрегатов, соответствующие предпочтительному варианту осуществления стабильности ЛП.

**[00249]** Тот же план исследования со встряхиванием использовали для второго исследования, дополненного дополнительной временной точкой 72 часа, контрольным образцом с 0,04% (масс./об.) PS20, выдержанным в условиях окружающей среды в течение 120 часов без встряхивания, и более широким разнонаправленным набором аналитических анализов. Во втором исследовании оценивали 10 мг/мл и 90 мг/мл теклистамаба в 15 мМ ацетата, 8% (масс./об.) сахарозы, 20 мкг/мл EDTA при pH 5,2 с добавлением 0,02, 0,04 или 0,06% (масс./об.) PS20. Составы 10 мг/мл аликвотировали в стеклянные флаконы 1 типа объемом 6 мл с объемом заполнения 3,5 мл, а составы 90 мг/мл аликвотировали в стеклянные флаконы 1 типа объемом 2 мл с объемом заполнения 2 мл.

**[00250]** Результаты представлены в таблице 3 и таблице 4. Ионообменная ВЭЖХ, кДСН в восстанавливающих и невосстанавливающих условиях и образцы после встряхивания продемонстрировали отсутствие существенных изменений значения по сравнению со значениями при  $T = 0$  для составов как 10 мг/мл, так и 90 мг/мл. Аналогичным образом также оставались неизменными концентрация белка, цвет раствора, pH и мутность. Результаты измерения содержания невидимых частиц при их рассмотрении в контексте величины их фармакопейных значений критериев приемлемости и общей методологии можно считать по существу одинаковыми в пределах заданного момента времени и по сравнению с  $T = 0$ . Результаты SEC после встряхивания показали небольшую тенденцию к увеличению агрегации в образцах с самой низкой (0,02% масс./об.) концентрацией PS20. Однако эти значения согласуются с предпочтительным вариантом осуществления стабильности ЛП.

**Таблица 3. Результаты исследования стресса при перемешивании для составов с различными концентрациями PS 20 — чистота и гетерогенность заряда**

Состав Концентрация поверхностно-активного вещества <sup>a</sup> (масс./об.)	Усло- вие	ЛП	эВЭЖХ			Ионообменная ВЭЖХ			кДСН (в невос- станав- ливаю- щих усло- виях)	кДСН (в вос- станав- ливаю- щих усло- виях)
			Основ- ной компо- нент (%)	HM WS (%)	LM WS (%)	Общее содержа- ние кислот- ных групп (%)	Глав- ный пик (%)	Общее содержа- ние щелоч- ных групп (%)	Чистота (%)	Чистота (%)
0,02%			99,1	0,9	< 0,1	17,2	78,0	4,8	98,3	99,2
0,04%	T = 0 ч	10 мг/ мл	99,1	0,9	< 0,1	17,4	78,0	4,6	98,2	99,1
0,08%			99,1	0,9	< 0,1	17,5	77,9	4,6	98,2	99,1
0,02%			98,8	1,2	< 0,1	17,7	78,2	4,1	98,1	99,2
0,04%	T = 72 ч	10 мг/ мл	99,2	0,8	< 0,1	17,8	78,5	3,7	98,3	99,2
0,08%			99,2	0,8	< 0,1	18,9	77,5	3,6	98,3	99,2
0,02%			98,7	1,3	< 0,1	17,6	77,9	4,5	98,2	99,1
0,04%	T = 0 ч	90 мг/ мл	98,7	1,3	< 0,1	17,8	77,6	4,6	98,1	99,2
0,08%			98,7	1,3	< 0,1	17,8	77,6	4,6	98,1	99,2
0,02%			97,6	2,4	< 0,1	17,6	77,8	4,6	98,1	99,2
0,04%	T = 72 ч	90 мг/ мл	98,7	1,3	< 0,1	17,8	78,4	3,8	97,9	99,2
0,08%			98,4	1,6	< 0,1	18,5	77,8	3,7	98,0	99,1

<sup>a</sup> Композиция состава представляет собой 10 мг/мл или 90 мг/мл теклистамаба в 15 мМ ацетата, 8% (масс./об.) сахарозы, 20 мкг/мл динатриевой EDTA, pH 5,2 в дополнение к PS 20

**Таблица 4. Результаты исследования стресса при перемешивании для составов ЛП 10 мг/мл и 90 мг/мл при различных концентрациях PS 20**

Концентрация поверхностно-активного вещества в составе <sup>a</sup> (масс./об.)	Момент времени	ЛП	Содержание невидимых твердых частиц, измеренное методом LO		Активность (%)
			≥ 10 мкм, частиц на контейнер	≥ 25 мкм, частиц на контейнер	
0,02%			53	1	103
0,04%	T = 0 ч	10 мг/мл	126	5	88
0,08%			64	4	97
0,02%			191	32	97
0,04%	T = 120 ч	10 мг/мл	308	9	106
0,08%			225	5	112
0,02%			15	4	109
0,04%	T = 0 ч	90 мг/мл	31	6	107
0,08%			12	3	102
0,02%			31	9	99
0,04%	T = 120 ч	90 мг/мл	36	5	91
0,08%			91	41	97

<sup>a</sup> Композиция состава представляет собой 10 мг/мл или 90 мг/мл теклистамаба в 15 мМ ацетата, 8% (масс./об.) сахарозы, 20 мкг/мл динатриевой EDTA, pH 5,2 в дополнение к PS 20

**[00251]** В совокупности эти исследования демонстрируют, что 0,02–0,08% (масс./об.) PS20 защищает теклистамаб от нестабильности, вызванной механическим стрессом.

**[00252] Пример 3. Исследование стресса при термоциклировании**

5 **[00253]** Исследования проводили для демонстрации устойчивости состава к физико-химическим стрессам, вызванным повторными циклами замораживания-оттаивания.

**[00254]** В этом исследовании составы 10 мг/мл и 90 мг/мл (15 мМ ацетата, 8% (масс./об.) сахарозы, 20 мкг/мл EDTA, 0,04% (масс./об.) PS20, pH 5,2) аликвотировали в поликарбонатные контейнеры объемом 5 мл и помещали в морозильную камеру с температурой -70 °С в вертикальном положении. После завершения замораживания флаконы извлекали из морозильной камеры и оставляли при температуре окружающей среды для оттаивания. После полного оттаивания контейнеры осторожно покручивали для обеспечения однородности раствора, а затем повторяли дополнительные циклы замораживания-оттаивания (F/T) до завершения в общей сложности 5 циклов.

10

Контрольные образцы не подвергали циклам замораживания-оттаивания.

Анализировали как контрольные, так и F/T-образцы.

**[00255]** Как показано в таблице 5, показатели качества образцов, прошедших пять циклов F/T, были почти идентичны контрольным образцам, которые хранили при 2–8 °С и не подвергали условиям замораживания-оттаивания. Кроме того, не наблюдалось значительных изменений концентрации белка, цвета раствора, pH или мутности.

<b>Таблица 5. Влияние повторных циклов замораживания-оттаивания на показатели качества ЛП 10 мг/мл и 90 мг/мл</b>					
Анализ	Критерий оценки	10 мг/мл		90 мг/мл	
		контроль	5X F/T	контроль	5X F/T
Твердые частицы (невидимые)	10 мкм, частиц на контейнер	100	55	23	21
	25 мкм, частиц на контейнер	4	0	3	3
Биологический анализ	Биоактивность, %	96	110	103	97
эВЭЖХ	Агрегат, %	0,9	0,8	1,2	1,2
	% мономера	99,1	99,2	98,8	98,8
	Фрагменты, %	0,0	0,0	0,0	0,0
Ионообменная ВЭЖХ	Общее содержание кислотных соединений, %	17,8	17,7	17,7	17,7
	Главный пик, %	77,6	78,0	77,9	77,9
	Общее содержание щелочных соединений, %	4,5	4,3	4,4	4,3
кДСН (в невосстанавливающих условиях)	Чистота, %	98,3	98,2	97,8	97,9
кДСН (в восстанавливающих условиях)	Чистота, %	99,1	99,0	99,0	99,0

**[00256]** Результаты этого исследования демонстрируют устойчивость состава с концентрацией 10 мг/мл и 90 мг/мл к стрессу, вызванному замораживанием-оттаиванием.

**[00257] Пример 4. Исследование с добавлением металлов**

**[00258]** Было проведено исследование для оценки воздействия ионов металлов, потенциально присутствующих в лекарственном препарате или вводимых в него во время производственных процессов.

**[00259]** Тестируемые составы состояли из 10 мг/мл или 90 мг/мл теклистамаба, 15 мМ ацетата, 8% сахарозы, 20 мкг/мл EDTA и 0,04% PS 20 при pH 5,2 с добавлением или без добавления железа ( $Fe^{3+}$ ), хрома ( $Cr^{3+}$ ), меди ( $Cu^{2+}$ ), никеля ( $Ni^{2+}$ ) и молибдена ( $Mo^{5+}$ ). Выбор металлов основан на составе компонентов металлических сплавов, потенциально присутствующих в рамках процессов получения. Для демонстрации устойчивости были созданы утрированные стрессовые условия с использованием концентраций металлов в два–четыре раза выше, чем самые высокие значения, которые наблюдаются в промышленных процессах производства лекарственного препарата в соответствии с надлежащей производственной практикой (GMP).

**[00260]** Тестируемые составы 10 мг/мл аликвотировали во флаконы 6R при объеме заполнения 3,5 мл, а тестируемые составы 90 мг/мл аликвотировали во флаконы объемом 2 мл при объеме заполнения 2,0 мл. Все флаконы закупоривали, накрывали крышкой и герметизировали путем обжата. Флаконы помещали для испытания стабильности при рекомендуемых ( $5\text{ }^{\circ}C$ ) и форсированных ( $25\text{ }^{\circ}C$ ) условиях на срок до 6 месяцев. В определенные моменты времени образцы извлекали и анализировали.

**[00261]** Как показано в таблице 6, показатели качества для составов 10 мг/мл и 90 мг/мл, подвергнутых воздействию ионов металлов, после 6 месяцев хранения при  $2\text{--}8\text{ }^{\circ}C$  были почти идентичны их соответствующим контрольным составам. Кроме того, значения показателей качества при  $T = 6$  месяцев мало изменились или не изменились по сравнению со значениями при  $T = 0$  для всех тестируемых составов, хранившихся при  $2\text{--}8\text{ }^{\circ}C$ . Ни для каких тестируемых составов в течение времени хранения не наблюдалось значимых изменений концентрации белка, цвета раствора, pH или мутности. Наконец, значения показателей качества всех составов с добавками металлов, хранившихся при  $2\text{--}8\text{ }^{\circ}C$  в течение шести месяцев, соответствовали наиболее предпочтительному варианту осуществления стабильности.

**[00262]** Как показано в таблице 7, показатели качества для составов 10 мг/мл и 90 мг/мл, подвергнутых воздействию ионов металлов, после 6 месяцев хранения при  $25\text{ }^{\circ}C$  были почти идентичны их соответствующим контрольным составам. Для всех тестируемых составов при  $T = 6$  месяцев наблюдалось незначительное или минимальное изменение некоторых значений показателей качества по сравнению со значениями при  $T = 0$ . Степень изменения соответствовала ожидаемому ухудшению показателей качества этих моноклональных антител при хранении в течение шести месяцев при  $25\text{ }^{\circ}C$ . Ни для каких тестируемых составов в течение времени хранения не

наблюдалось значимых изменений концентрации белка, цвета раствора, рН или мутности. Наконец, значения показателей качества всех составов с добавками металлов, хранившихся при 25 °С в течение шести месяцев, соответствовали предпочтительному варианту осуществления стабильности.

- 5 **[00263]** В совокупности данные демонстрируют устойчивость составов 10 мг/мл и 90 мг/мл к потенциальным окислительным стрессам, возникающим при нормальных и/или утрированных процессах производства и условиях хранения лекарственного препарата.

Таблица 6. Влияние ионов металлов на стабильность ЛП 10 мг/мл и 90 мг/мл в течение 6 месяцев при 2–8 °С									
Анализ	Характеристика	Состав							
		10 мг/мл		10 мг/мл + металлы		90 мг/мл		90 мг/мл + металлы	
		T = 0	6 мес.	T = 0	6 мес.	T = 0	6 мес.	T = 0	6 мес.
Твердые частицы (невидимые)	10 мкм, частиц на контейнер	36	19	67	27	88	16	594	179
	25 мкм, частиц на контейнер	15	1	14	5	61	1	347	134
Биологический анализ	Биоактивность, %	101	95	104	98	94	92	115	96
эВЭЖХ	Агрегат, %	0,8	0,7	0,8	0,8	1,2	1,6	1,3	1,7
	% мономера	99,2	99,3	99,2	99,2	98,7	98,4	98,7	98,3
	Фрагменты, %	< 0,1	< 0,1	< 0,1	< 0,1	< 0,1	< 0,1	< 0,1	< 0,1
Ионообменная ВЭЖХ	Общее содержание кислотных соединений, %	18,6	19,6	19,3	19,7	18,6	19,4	18,6	19,6
	Главный пик, %	78,3	77,1	77,3	76,9	78,1	77,1	78	76,7
	Общее содержание щелочных соединений, %	3,1	3,3	3,4	3,4	3,4	3,6	3,4	3,7

Субъединица ЖХМС	Общее окисление при сверхкритической флюидной хроматографии (scFc) ВСМА	3,1	3,2	3,1	3,4	3,4	3,4	3,4	3,4
	Общее окисление scFc CD3	2,5	3	2,7	3,1	2,7	3,2	2,5	3,2
кДСН (в невосстанавливающих условиях)	Чистота, %	98,9	98,4	98,8	98,7	98,8	98,4	98,7	97,7
кДСН (в восстанавливающих условиях)	Чистота, %	98,9	98,8	98,9	98,7	98,8	98	98,7	97,8

Таблица 7. Влияние ионов металлов на стабильность ЛП 10 мг/мл и 90 мг/мл в течение 6 месяцев при 25 °С

Анализ	Характеристика	Состав							
		10 мг/мл		10 мг/мл + металлы		90 мг/мл		90 мг/мл + металлы	
		T = 0	6 мес.	T = 0	6 мес.	T = 0	6 мес.	T = 0	6 мес.
Твердые частицы (невидимые)	<sup>3</sup> 10 мм, частиц на контейнер	36	7	67	60	88	3	594	10
	<sup>3</sup> 25 мм, частиц на контейнер	15	0	14	9	61	1	347	1
Биологический анализ	Биоактивность, %	101	51	104	58	94	63	115	58
эВЭЖХ	Агрегат, %	0,8	1	0,8	1,2	1,2	2,3	1,3	2,6
	% мономера	99,2	99	99,2	98,7	98,7	97,6	98,7	97,4
	Фрагменты, %	< 0,1	< 0,1	< 0,1	< 0,1	< 0,1	< 0,1	< 0,1	< 0,1
Ионообменная ВЭЖХ	Общее содержание кислотных	18,6	26,1	19,3	28	18,6	24,1	18,6	24,6

	соединений, %								
	Главный пик, %	78,3	69,7	77,3	67,2	78,1	70,9	78	70,3
	Общее содержание щелочных соединений, %	3,1	4,3	3,4	4,8	3,4	5	3,4	5,1
Субъединица ЖХМС	Общее окисление scFc ВСМА	3,1	4,9	3,1	4,1	3,4	4,1	3,4	4,3
	Общее окисление scFc CD3	2,5	4,7	2,7	4,1	2,7	4	2,5	4,1
кДСН (в невосстанавливающих условиях)	Чистота, %	98,9	97,1	98,8	97,2	98,8	96,6	98,7	96,9
кДСН (в восстанавливающих условиях)	Чистота, %	98,8	97,7	98,7	97,5	98,8	98	98,7	97,8

**[00264] Пример 5. Повышение устойчивости состава**

**[00265] Дизайн исследования**

**[00266]** Стабильность состава моноклонального антитела является результатом

5 совокупного эффекта комплексных взаимодействий между компонентами состава. Для оценки этих взаимодействий использовали методологию схемы проведения экспериментов (DOE) для создания многофакторного исследования стабильности, в котором генерируется статистически определенное число экспериментальных

10 тестируемых составов, которые одновременно изменяют параметры компонентов состава. Статистический анализ результатов исследования обеспечивает количественное понимание того, как параметры состава взаимодействуют, чтобы влиять на характеристики стабильности и, в свою очередь, продемонстрировать

15 устойчивость состава. Экспериментальные тестируемые составы лекарственного препарата против ВСМА x CD3 выдерживали в рекомендованных (5 °C) и форсированных (25 °C) условиях в течение 12 месяцев и шести месяцев

соответственно. К оцениваемым компонентам состава относились концентрация белка, концентрация ацетата, концентрация сахарозы, концентрация полисорбата 20, концентрация EDTA и pH. Диапазоны концентраций тестируемых факторов приведены в таблице 8 (целевые значения состава включены в таблицу для обеспечения контекста). Исследование охватывало составы ЛП 10 мг/мл и 90 мг/мл. Типичный диапазон концентрации белка для оценки составляет +/-12% от целевого значения. Следовательно, значения концентрации белка, выбранные для исследования, представляют собой 88% для состава 10 мг/мл и 111% для состава 90 мг/мл.

Таблица 8. Диапазоны концентраций тестируемых факторов

Тестируемые факторы	Низ- кий	Целевой уровень	Высокий
Белок (мг/мл)	8,8	Н/О	100
pH	4,6	5,2	5,8
Ацетат (мМ)	10	15	20
Концентрация сахарозы (% масс./об.)	6	8	10
Концентрация EDTA (мкг/мл)	7,5	20	32,5
Концентрация PS20 (% масс./об.)	0,015	0,04	0,065

10 [00267] На основании этого критерия использовали статистическое программное обеспечение JMP®, чтобы создать план дробного факторного эксперимента (таблица 9).

Таблица 9. Композиции составов, тестируемых в исследовании

Состав, тестируемый в исследовании	Теклистамаб (мг/мл)	Ацетат	pH	Сахароза	EDTA	PS20
1	100	10	5,8	10	0,015	7,5
2	100	10	4,6	6	0,065	7,5
3	100	20	5,8	6	0,065	7,5
4	100	10	5,8	6	0,015	32,5
5	8,8	20	5,8	10	0,015	32,5
6	8,8	10	4,6	10	0,015	32,5
7	100	10	4,6	10	0,065	32,5
8	100	20	5,8	10	0,065	32,5
9	8,8	20	5,8	6	0,015	7,5
10	8,8	10	5,8	10	0,065	7,5
11	100	20	4,6	10	0,015	7,5
12	8,8	10	5,8	6	0,065	32,5
13	8,8	20	4,6	10	0,065	7,5
14	8,8	10	4,6	6	0,015	7,5
15	100	20	4,6	6	0,015	32,5
16	8,8	20	4,6	6	0,065	32,5

**[00268]** Использовали 16 составов для наполнения флаконов 6R при объеме заполнения 2 мл на флакон (максимальный размер флакона и минимальный объем заполнения для форм ЛП 10 и 90 мг/мл) для отражения наихудшего случая парофазного пространства. В таблице 10 показаны полные диапазоны протестированных параметров состава. Измеренные концентрации ацетата после ультрафильтрации/диафильтрации (УФ/ДФ) во время подготовки образца были выше номинальных уровней до УФ/ДФ вследствие ограничений эффекта Гиббса — Доннана.

Таблица 10. Диапазоны испытанных параметров состава

Параметр состава	Наименьшее испытанное значение	Наибольшее испытанное значение
Концентрация JNJ-64007957 (мг/мл)	8,2	107,5
pH	4,5	5,9
Концентрация ацетата (мМ)	10	41
Концентрация сахарозы (% масс./об.)	5,9	10,9
Концентрация EDTA (мг/мл)	4,7	34,8
Концентрация полисорбата 20 (% масс./об.)	0,012	0,058

**[00269]** Флаконы закупоривали, накрывали крышкой и герметизировали путем обжатия. Флаконы помещали для испытания стабильности при рекомендуемых (5 °C) и форсированных (25 °C) условиях. В определенные моменты времени образцы извлекали и анализировали.

#### **[00270] Результаты исследования**

**[00271]** Результаты тестирования по каждому показателю шестнадцати составов в начале исследования (нулевое время), через 6 месяцев при повышенной температуре (25 °C) и через 6 и 12 месяцев при рекомендуемых условиях хранения (5 °C) представлены в таблице 11. Данные представлены в виде диапазона, среднего значения и стандартного отклонения для восьми составов по каждому показателю.

**[00272]** Результаты анализа для всех составов, выдержанных в течение 6 и 12 месяцев при 5 °C, отражают небольшие изменения в значениях аналитических тестов, что указывает на стабильность. Способность всех составов с многовариантными диапазонами концентраций эксципиентов давать узкий диапазон значений результатов анализа тестирования для всех, кроме одного анализа (мутность), свидетельствует об устойчивости составов в пределах тестируемых границ и условий хранения. Кроме того, полный диапазон значений, наблюдаемых для всех, кроме одного анализа, в этом исследовании был стабильным при хранении при 2–8 °C.

**[00273]** Что касается мутности, рассчитанное среднее значение мутности для всех составов сохранялось в течение 12 месяцев при 5 °С (6,4 NTU) и соответствовало определению стабильной водной фармацевтической композиции, как указано в настоящем документе. Однако наблюдаемый диапазон значений анализа и рассчитанное стандартное отклонение были относительно больше, чем наблюдаемые для других анализов. Дальнейший анализ данных показал, что 3 из 16 тестируемых составов последовательно демонстрировали значение мутности выше 15 NTU, но не более 20 NTU во все моменты времени и при всех температурах. Эти составы представляли собой три из четырех тестируемых составов в исследовании, составленных с высоким значением pH (5,8) и высокой концентрацией белка (100 мг/мл). Если опустить значения мутности для четырех тестируемых составов с высоким значением pH (5,8) и высокой концентрацией белка (100 мг/мл), то рассчитанные среднее значение, стандартное отклонение и диапазон значений анализа мутности для остальных 12 составов, выдержанных в течение 12 месяцев при 5 °С, составляли 3,5 NTU, 1,6 NTU и 1,4–6,3 NTU соответственно, что согласуется с наиболее предпочтительным вариантом осуществления стабильности.

**[00274]** Результаты анализа для всех составов, выдержанных в течение 6 месяцев при форсированных (25 °С) условиях хранения, демонстрировали эффекты деградации, соответствующие профилю стабильности антитела к ВСМАхCD3, подвергнутого длительному воздействию форсированных условий хранения, что продемонстрировано увеличением размера диапазона значений результатов. Однако рассчитанное среднее значение для 7 из 9 результатов анализа соответствовало наиболее предпочтительному варианту осуществления стабильности при хранении в течение шести месяцев в форсированных (25 °С) условиях хранения.

Таблица 11. Обобщенные данные исследования (диапазон, среднее значение и стандартное отклонение)													
Анализ		Время и условия хранения											
		T = 0 мес.			6 мес., 25 °С			6 мес., 5 °С			12 мес., 5 °С		
		Диа-пазон	Сред-нее	CO	Диа-пазон	Сред-нее	CO	Диа-пазон	Сред-нее	CO	Диа-пазон	Сред-нее	CO
КИЭФ	% площади главного пика	78,4–78,8	78,6	0,1	64,3–73,1	69,9	3,0	78,1–78,6	78,4	0,2	77,1–78,1	77,6	0,4
	% сум-	17,7–18,0	17,8	0,1	21,0–31,0	24,7	3,6	17,8–18,5	18,1	0,2	18,3–19,5	18,8	0,4

Таблица 11. Обобщенные данные исследования (диапазон, среднее значение и стандартное отклонение)													
Анализ		Время и условия хранения											
		Т = 0 мес.			6 мес., 25 °С			6 мес., 5 °С			12 мес., 5 °С		
		Диа-пазон	Сред-нее	СО	Диа-пазон	Сред-нее	СО	Диа-пазон	Сред-нее	СО	Диа-пазон	Сред-нее	СО
	мы-кис-лот-ных-пиков												
	% сум-мы-щел-оч-ных-пиков	3,5–3,9	3,6	0,1	4,5–6,7	5,5	0,8	3,3–3,7	3,5	0,1	3,4–3,8	3,6	0,2
кДСН	% чис-тоты (не-вос-ста-нав-лива-ющие усло-вия)	97,5–99,0	98,2	0,3	96,5–98,4	97,8	0,4	97,9–98,8	98,4	0,3	98,4–98,9	98,7	0,2
	% чис-тоты (вос-стана-вли-ва-ющие усло-вия)	97,5–99,0	98,8	0,4	97,5–98,1	97,8	0,2	99,1–99,8	98,9	0,1	98,7–98,7	98,5	0,1
эВЭЖХ	Агре-гат, %	0,9–1,8	1,3	0,3	0,7–3,3	2,0	0,9	0,7–2,3	1,4	0,6	0,7–2,4	1,4	0,6
	% моно-мера	98,2–99,1	98,7	0,3	96,7–99,2	98,0	0,9	97,7–99,3	98,6	0,6	97,5–99,3	98,6	0,6
	Фраг-мен-ты, %	Н/О	< 0,1	16 из 16 < 0,1	< 0,1–0,1	Н/О	10 из 16 < 0,1	Н/О	< 0,1	16 из 16 < 0,1	Н/О	< 0,1	16 из 16 < 0,1
Мут-ность	НЕМ	1,4–17,8	6,1	5,7	1,4–19,5	6,3	6,3	1,5–18,6	6,2	5,8	1,6–18,8	6,4	5,7

**[00275] Статистический анализ результатов исследования**

**[00276]** Чтобы определить, какие факторы оказали статистически значимое влияние на данный отклик, для статистического анализа данных за 12 месяцев при 2–8 °С

5 использовали общую линейную модель. Анализ проводили с фактическими измеренными значениями для каждого фактора в каждом тестируемом составе после проведения УФ/ДФ. В таблице 12 представлены рассчитанные р-значения для каждого фактора относительно данного отклика и соответствующие скорректированные значения достоверности аппроксимации, сгенерированные моделью. Статистически  
10 значимыми считаются р-значения менее 0,05.

**Таблица 12. Рассчитанные р-значения для каждого фактора относительно данного отклика**

Показатель	Р-значение							
	Мономеры (%)	Агрегаты (%)	кДСН (восст.) (%)	кДСН (невосст.) (%)	Кислотные (%)	Основные (%)	Щелочные (%)	Мутность (NTU)
АФИ	0,00	0,00	0,52	0,37	0,02	0,74	0,00	0,07
Ацетат (мМ)	0,04	0,04	0,53	0,98	0,80	0,57	0,37	0,61
рН	0,00	0,00	0,01	0,26	0,00	0,00	0,25	0,03
Сахароза (% масс./об.)	0,36	0,44	0,08	0,64	0,37	0,22	0,11	0,47
EDTA (мг/мл)	0,41	0,33	0,69	0,87	0,88	0,20	0,12	0,29
PS 20 (% масс./об.)	0,37	0,50	0,91	0,77	0,54	0,88	0,71	0,34
Достоверность аппроксимации (скорр.)	93,18%	92,22%	63,56%	0,00%	86,02%	85,28%	83,63%	54,28%

**[00277]** Концентрация активного фармацевтического ингредиента (АФИ)

**[00278]** Концентрация АФИ показала статистически значимую отрицательную

15 корреляцию с % мономера, а также показала соответствующую статистически значимую положительную корреляцию с % агрегатов. Эти тенденции указывают на то, что повышенная концентрация АФИ коррелирует со сниженной стабильностью, измеренной методом SEC. Однако в пределах диапазона концентраций, оцененного в этом исследовании (8–100 мг/мл), наблюдаемый диапазон результатов анализа % мономера и % агрегатов соответствовал определению стабильной водной  
20 фармацевтической композиции, как указано в настоящем документе.

**[00279]** Концентрация АФИ также показала статистически значимую отрицательную корреляцию с % кислотного пика, а также показала статистически значимую положительную корреляцию с % щелочного пика. Однако, как показано в таблице 12, диапазон значений результатов для % кислотного пика и % щелочного пика считается  
5 чрезвычайно узким для этих двух показателей. Таким образом, хотя рассчитанная концентрация АФИ имеет статистическую значимость, считается, что концентрация АФИ 8–100 мг/мл не оказывает практического влияния на % кислотных и % щелочных пиков.

**[00280]** pH состава

10 **[00281]** Значение pH состава показало статистически значимую отрицательную корреляцию с % мономера, а также показало соответствующую статистически значимую положительную корреляцию с % агрегатов. Эти тенденции указывают на то, что повышенное значение pH коррелирует со сниженной стабильностью, измеренной методом SEC. Однако в пределах диапазона pH, оцененного в этом исследовании (4,6–  
15 5,8), наблюдаемый диапазон результатов анализа % мономера и % агрегатов соответствовал наиболее предпочтительному варианту осуществления стабильности.

**[00282]** Значение pH состава продемонстрировало статистически значимую положительную корреляцию с мутностью, указывая на то, что повышенное значение pH коррелирует со сниженной стабильностью, измеренной по мутности. Однако  
20 величина достоверности аппроксимации (скорректированная) для линейной модели была относительно низкой (54,28%). Это, возможно, связано с приведенными выше наблюдениями, в которых значения мутности, превышающие 15 NTU, последовательно наблюдались в трех тестируемых составах, составленных с высоким значением pH (5,8) и высокой концентрацией белка (100 мг/мл). Три значения результатов измерения  
25 мутности могут, в свою очередь, исказить линейную модель, используемую в этом анализе. Однако в пределах диапазона pH, оцененного в этом исследовании (4,6–5,8), диапазон результатов измерения мутности для тестируемых составов с низкой концентрацией белка соответствовал наиболее предпочтительному варианту осуществления стабильности.

30 **[00283]** Значение pH также продемонстрировало статистически значимую отрицательную корреляцию с % главного пика и % чистоты при измерении методом кДСН в восстанавливающих условиях, а также продемонстрировало статистически значимую положительную корреляцию с % щелочного пика. Однако, также аналогично концентрации АФИ, и как показано в таблице 12, диапазон значений результатов для %

кислотного пика, % главного пика и % чистоты при измерении методом кДСН в восстанавливающих условиях считается чрезвычайно узким для этих трех показателей. Таким образом, хотя рассчитанное значение рН от 4,6 до 5,8 имеет статистическую значимость, считается, что оно не оказывает практического влияния на % кислотного, % щелочного пика и % чистоты при измерении методом кДСН в восстанавливающих условиях.

**[00284]** Концентрация ацетата

**[00285]** Состав с ацетатом продемонстрировал статистически значимую

отрицательную корреляцию с % мономера, а также продемонстрировал

соответствующую статистически значимую положительную корреляцию с % агрегатов.

Эти тенденции указывают на то, что повышенная концентрация ацетата коррелирует со сниженной стабильностью, измеренной методом SEC. Однако в пределах диапазона концентраций ацетата, оцененного в этом исследовании (10–20 мМ), наблюдаемый диапазон результатов анализа % мономера и % агрегатов соответствовал наиболее предпочтительному варианту осуществления стабильности.

**[00286]** **Пример 6. Производство нерасфасованного лекарственного препарата**

**[00287]** **Описание процесса**

**[00288]** Растворы для обработки

Таблица 13. Растворы для обработки, целевая композиция и диапазоны

Раствор	Композиция и диапазоны
Буфер для диафильтрации	10 мМ ацетата, 8,6% сахарозы (масс./об.), рН 4,9
Полисорбат 20, маточный раствор EDTA	10 мМ ацетата, 8% (масс./об.) сахарозы; 4% (вес/об.) PS20; 2 г/л EDTA, рН 5,2

**[00289]** Ультрафильтрация/диафильтрация (УФ/ДФ)

**[00290]** Ультрафильтрацию/диафильтрацию (УФ/ДФ) проводили для изменения состава промежуточного производственного раствора фильтрата теклистамаба Planova в раствор предварительно подготовленного нерасфасованного препарата (рФВ), состоящий из 90 мг/мл теклистамаба, 10 мМ ацетата, 8% (масс./об.) сахарозы, с рН 4,9.

**[00291]** Получение нерасфасованного препарата (FB) теклистамаба

**[00292]** Маточный раствор полисорбата 20 (4,0% масс./об.) и EDTA (2 мг/мл)

добавляли в рFB при разведении 1 : 100 для получения конечной концентрации 0,04% (масс./об.) полисорбата 20 и 20 мкг/мл EDTA, в результате чего получали

5 нерасфасованный препарат (FB), состоящий из 90 мг/мл теклистамаба в 15 мМ ацетата, 8% (масс./об.) сахарозы, 0,04% полисорбата 20, 20 мкг/мл EDTA, с pH 5,2. Затем раствор FB равномерно перемешивали. Конечную фильтрацию нерасфасованного препарата осуществляли, используя стерильный фильтр 0,45/0,22 мкм и сразу после него следующий фильтр 0,22 мкм.

10 **[00293]** Разлив готового препарата

**[00294]** После конечной фильтрации FB заливали в поликарбонатную (-ые) бутылку (-и) Biotainer. Номинальный объем составляет от 20% до 90% от заявленного объема бутылки.

**[00295]** Хранение и перевозка готового нерасфасованного препарата

15 **[00296]** Условия хранения и перевозки нерасфасованного препарата перед производством лекарственного препарата представляли собой  $5\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 3\text{ }^{\circ}\text{C}$  с защитой от света, если FB хранился в течение около одной недели или менее, или  $-40\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 10\text{ }^{\circ}\text{C}$  с защитой от света, если FB хранился в течение более одной недели.

20 **[00297]** **Пример 7. Состав лекарственного препарата 90 мг/мл: композиция и компоненты первичной упаковки**

**[00298]** В настоящем документе представлена сводная таблица о композиции состава лекарственного препарата теклистамаба 90 мг/мл, таблица 14.

Таблица 14. Композиция лекарственного препарата теклистамаба 90 мг/мл	
Компонент	Количество на мл
Теклистамаб	90 мг
Тригидрат ацетата натрия	1,497 мг
Ледяная уксусная кислота	0,240 мг
Сахароза	8 мг
Полисорбат 20	0,40 мг
Динатриевая соль EDTA, дигидрат	0,02 мг
Вода для инъекции	доведение до 1,0 мл

25 **[00299]** Первичная упаковка лекарственного препарата (ЛП) теклистамаба 90 мг/мл состоит из стеклянного флакона, полимерной пробки флакона и алюминиевого

уплотнения. В таблице 15 представлены конкретные компоненты первичного упаковочного материала для формы выпуска ЛП 90 мг/мл.

Компонент	Описание
Стекланный флакон	2 мл, стекло, тип 1, боросиликатное
Пробка	Пробка 4432/50, 13 мм, серая с покрытием Flurotec, RTS
Уплотнения	Серебристое алюминиевое уплотнение 13 мм с колпачком с отрывной накладкой оранжевого цвета

**[00300] Пример 8. Получение раствора ЛП 10 мг/мл**

5 **[00301]** Разбавление нерасфасованного препарата (FB) теклистамаба

**[00302]** Разбавление проводили для изменения состава теклистамаба, полученного в форме нерасфасованного промежуточного производственного раствора, в раствор лекарственного препарата, состоящий из 10 мг/мл теклистамаба, 15 мМ ацетата, 8% (масс./об.) сахарозы, 20 мкг/мл, EDTA, pH 5,2.

10 **[00303]** Буфер для разведения

**[00304]** В настоящем документе представлена сводная таблица о составе буфера для разведения, таблица 16. Конечную фильтрацию буфера для разведения проводили с использованием стерильного фильтра 0,22 мкм.

Компонент	Композиция	Количество на мл
Тригидрат ацетата натрия	15 мМ	1,497 мг
Ледяная уксусная кислота		0,240 мг
Сахароза	8% (масс./об.)	8 мг
Полисорбат 20	0,04%	0,40 мг
Динатриевая соль EDTA, дигидрат	20 мкг/мл	0,02 мг
Вода для инъекции	доведение до 1,0 мл	доведение до 1,0 мл

15 **[00305]** Получение раствора лекарственного препарата теклистамаба 10 мг/мл

**[00306]** Буфер для разведения добавляли в FB 90 мг/мл с получением раствора лекарственного препарата 10 мг/мл, состоящего из 10 мг/мл теклистамаба в 15 мМ ацетата, 8% (масс./об.) сахарозы, 0,04% полисорбата 20, 20 мкг/мл EDTA, с pH 5,2.

**[00307] Пример 9. Состав лекарственного препарата 10 мг/мл: композиция и компоненты первичной упаковки**

20

**[00308]** В настоящем документе представлена сводная таблица о композиции состава лекарственного препарата теклистамаба 10 мг/мл, таблица 17.

Таблица 17. Композиция лекарственного препарата теклистамаба 10 мг/мл

Компонент	Количество на мл
Теклистамаб	10 мг
Тригидрат ацетата натрия	1,497 мг
Ледяная уксусная кислота	0,240 мг
Сахароза	8 мг
Полисорбат 20	0,40 мг
Динатриевая соль EDTA, дигидрат	0,02 мг
Вода для инъекции	доведение до 1,0 мл

**[00309]** Первичная упаковка лекарственного препарата (ЛП) теклистамаба 10 мг/мл состоит из стеклянного флакона, полимерной пробки флакона и алюминиевого уплотнения. В таблице 18 представлены конкретные компоненты первичного упаковочного материала для формы выпуска ЛП 30 мг.

Таблица 18. Компоненты первичного упаковочного материала для ЛП 10 мг/мл

Компонент	Описание
Стеклофлакон	Стекло 6R, тип 1, боросиликатное
Пробка	Пробка 4023/50, 20 мм, серая с покрытием Flurotec, RTS
Уплотнения	20 мм, с отрывной утапливаемой накладкой ROYBLU 1280

**[00310] Пример 10. Описание исследования стабильности 90 мг/мл**

**[00311]** Данное исследование проводили для отслеживания показателей лекарственного препарата теклистамаба 90 мг/мл, определяющих стабильность при различных условиях окружающей среды и сроках. Исследуемые тестируемые препараты получали путем аликвотирования нерасфасованного препарата во флаконы емкостью 2 мл до объема заполнения 2,0 мл. Флаконы закупоривали, накрывали крышкой и герметизировали путем обжатия

**[00312]** Все исследования должны были проводиться с флаконами в перевернутом положении.

Таблица 19. Параметры исследования

Классификация стабильности	Условия хранения	Продолжительность (месяцы)
В реальном времени	5 ± 3 °C	36
Форсированные	25 ± 2 °C / 60% относительной влажности (RH)	12
Стрессовые	40 ± 2 °C / 75% RH	6

**[00313] Результаты исследования стабильности**

**[00314]** Результаты исследования стабильности для ЛП теклистамаба, выдержанного в рекомендуемых, форсированных и стрессовых условиях, приведены ниже. В любой момент времени для ЛП, выдерживаемого в рекомендуемых условиях хранения, все значения результатов для тестируемых параметров, наблюдаемые в рамках каждого количественного исследования, превосходили критерии, соответствующие наиболее предпочтительному варианту осуществления стабильности при выдерживании после хранения в течение около 12 месяцев или более и при температуре около 5 °С и/или после хранения в течение около 2 лет или более и при температуре около 5 °С.

Аналогичным образом результаты пептидной карты отражали практически полное отсутствие изменений с течением времени в измеренном процентном показателе посттрансляционной модификации.

**[00315]** Результаты для ЛП теклистамаба, выдержанного в форсированных (12 месяцев при  $25 \pm 2$  °С / 60% RH) и стрессовых (6 месяцев при  $40 \pm 2$  °С / 75% RH)

условиях, показали ожидаемые скорости деградации лекарственного препарата, подвергнутого длительному воздействию форсированных и стрессовых условий хранения. Следует особо отметить, что большинство значений результатов тестируемых параметров, наблюдаемых в ходе количественного исследования ЛП, выдержанного в форсированных условиях (25 °С) в течение 12 месяцев, показали результаты, соответствующие наиболее предпочтительному варианту осуществления стабильности или превышающие его, при этом все остальные результаты, за исключением одного, соответствуют предпочтительным или описанным вариантам осуществления.

**Данные для 5 °С**

Таблица 20. Результаты исследования стабильности лекарственного препарата теклистамаба 90 мг/мл, который хранили при 5 °С							
Месяцы	Цвет раствора	pH	Мутность (НЕМ)	Твердые частицы		кДСН (в восстанавливающих условиях)	
				Невидимые		Чистота: %	новые пики
				≥ 10 мкм: частиц на флакон	≥ 25 мкм: частиц на флакон		
0	≤ ВУ6, ≤ В6, ≤ У6	5,18	4,7	46	1,74	98,97	Отсутствие нового пика > 1,0% по сравнению с эталонным материалом

3	$\leq \text{BY6},$ $\leq \text{B6}, \leq \text{Y6}$	5,27	5,1	40,40	0,94	99,002	Отсутствие нового пика > 1,0% по сравнению с эталонным материалом
6	$\leq \text{BY6},$ $\leq \text{B6}, \leq \text{Y6}$	5,26	5,0	67,20	1,86	98,902	Отсутствие нового пика > 1,0% по сравнению с эталонным материалом
9	$\leq \text{BY6},$ $\leq \text{B6}, \leq \text{Y5}$	5,25	5,1	36,80	3,34	98,601	Отсутствие нового пика > 1,0% по сравнению с эталонным материалом
12	$\leq \text{B6},$ $\leq \text{BY6},$ $\leq \text{Y6}$	5,23	5,1	86,00	6,00	98,948	Отсутствие нового пика > 1,0% по сравнению с эталонным материалом
18	$\leq \text{B6},$ $\leq \text{BY5},$ $\leq \text{Y5}$	5,24	5,7	44,14	2,00	98,859	Отсутствие нового пика > 1,0% по сравнению с эталонным материалом
24	$\leq \text{BY6},$ $\leq \text{B6}, \leq \text{Y5}$	5,3	5,6	21	1	98,9	Отсутствие нового пика > 1,0% по сравнению с эталонным материалом
36							

Таблица 20. Результаты исследования стабильности лекарственного препарата теклистамаба 90 мг/мл, который хранили при 5 °С (продолжение)

Месяцы	кДСН (в невосстанавливающих условиях)		эВЭЖХ			Конц. белка по $A_{280}$ (мг/мл)	Анализ активации Т-клеток для определения эффективности
	Чистота (%)	Новый пик (%)	Основной компонент (%)	HMWS (%)	LMWS (%)		% активности эталонного материала
0	98,5749	Отсутствие нового пика > 1,0% по сравнению с эталонным материалом	98,623	1,377	< 0,1	90,675	102

3	97,481	Отсутствие нового пика > 1,0% по сравнению с эталонным материалом	98,581	1,419	< 0,1	90,970	96
6	98,510	Отсутствие нового пика > 1,0% по сравнению с эталонным материалом	98,534	1,466	< 0,1	90,295	98
9	98,476	Отсутствие нового пика > 1,0% по сравнению с эталонным материалом	98,471	1,529	< 0,1	90,591	93
12	98,674	Отсутствие нового пика > 1,0% по сравнению с эталонным материалом	98,422	1,578	< 0,1	90,422	82
18	98,537	Отсутствие нового пика > 1,0% по сравнению с эталонным материалом	98,283	1,717	< 0,1	90,717	78
24	98,1	Отсутствие нового пика > 1,0% по сравнению с эталонным материалом	98,2	1,8	< 0,1	90,9	86
36							

Таблица 20. Результаты исследования стабильности лекарственного препарата теклистамаба 90 мг/мл, который хранили при 5 °С (продолжение)

Месяцы	Ионообменная ВЭЖХ					
	Главный пик (%)	Сумма кислотных пиков (%)	Сумма основных пиков (%)	Остаточные исходные гомодимеры, компонент 1 (%)	Остаточные исходные гомодимеры, компонент 2 (%)	Полисорбат 20 (%)
0	78,614	18,151	3,235	0,0	1,7762	0,037
3	78,355	18,257	3,388	0,0000	1,6208	0,035
6	77,203	19,428	3,369	0,0000	1,6008	0,038

9	77,240	19,064	3,695	0,0000	1,8243	0,035
12	75,984	20,070	3,946	0,0000	1,3635	0,032
18	76,408	19,882	3,710	0,0000	1,4543	0,032
24	76,7	19,7	3,7	0,0000	1,1024	0,0304
36						

Таблица 20. Результаты исследования стабильности лекарственного препарата теклистамаба 90 мг/мл, который хранили при 5 °С (продолжение)

Месяцы	Посттрансляционная модификация		
	Окисление Met253 НС ВСМА / Met257 НС CD3	Дезамидирование Asn103/Asn106 НС CD3	Изомеризация Asp101 НС ВСМА
	(%)	(%)	(%)
0	3,4	12,6	5,4
3	3,1	12,2	6,9
6	3,5	11,1	5,8
9	Н/П*	Н/П*	Н/П*
12	3,3	12,8	8,1
18	3,2	12,5	8,7
24	3,0	11,9	8,2
36			

\*запланированное тестирование на указанный момент времени отменено.

### Данные для 25 °С

Таблица 21. Результаты исследования стабильности лекарственного препарата теклистамаба 90 мг/мл, который хранили при 25 °С

Месяцы	Цвет раствора	рН	Мутность (НЕМ)	Твердые частицы		кДСН (в восстанавливающих условиях)	
				Невидимые		Чистота: %	новые пики
				≥ 10 мкм: частиц на флакон	≥ 25 мкм: частиц на флакон		
0	≤ ВУ6, ≤ В6, ≤ У6	5,18	4,7	46	1,74	98,97	Отсутствие нового пика > 1,0% по сравнению с эталонным материалом
1	≤ ВУ6, ≤ В6, ≤ У5	5,27	5,2	11,46	0,00	98,832	Отсутствие нового пика > 1,0% по сравнению с эталонным материалом
3	≤ ВУ6, ≤ В6, ≤ У6	5,29	7,6	63,46	1,46	98,397	Отсутствие нового пика > 1,0% по сравнению с эталонным материалом

6	$\leq \text{BY}_6,$ $\leq \text{B}_6, \leq \text{Y}_5$	5,30	5,2	24,54	0,66	97,679	Отсутствие нового пика > 1,0% по сравнению с эталонным материалом
9	$\leq \text{BY}_6,$ $\leq \text{B}_6, \leq \text{Y}_6$	5,27	5,0	42,66	0,66	97,458	Отсутствие нового пика > 1,0% по сравнению с эталонным материалом
12	$\leq \text{BY}_5,$ $\leq \text{B}_6, \leq \text{Y}_6$	5,2	5,8	56	1	96,6	Отсутствие нового пика > 1,0% по сравнению с эталонным материалом

Таблица 21. Результаты исследования стабильности лекарственного препарата теклистамаба 90 мг/мл, который хранили при 25 °С (продолжение)

Месяцы	кДСН (в невосстанавливающих условиях)		эВЭЖХ			Конц. белка по $A_{280}$ (мг/мл)	Анализ активации Т-клеток для определения эффективности % активности эталонного материала
	Чистота (%)	Новый пик (%)	Основной компонент (%)	HMWS (%)	LMWS (%)		
0	98,5749	Отсутствие нового пика > 1,0% по сравнению с эталонным материалом	98,623	1,377	< 0,1	90,675	102
1	97,333	Отсутствие нового пика > 1,0% по сравнению с эталонным материалом	98,336	1,664	< 0,1	90,211	94
3	98,016	Отсутствие нового пика > 1,0% по сравнению с эталонным материалом	98,086	1,914	< 0,1	89,789	86

6	97,532	Отсутствие нового пика > 1,0% по сравнению с эталонным материалом	97,706	2,239	0,054	90,253	53
9	95,310	Отсутствие нового пика > 1,0% по сравнению с эталонным материалом	97,443	2,480	0,077	90,759	
12	95,6	Отсутствие нового пика > 1,0% по сравнению с эталонным материалом	97	2,9	0,1	91,1	36

Таблица 21. Результаты исследования стабильности лекарственного препарата теклистамаба 90 мг/мл, который хранили при 25 °С (продолжение)

Месяцы	Ионообменная ВЭЖХ					
	Главный пик (%)	Сумма кислотных пиков (%)	Сумма основных пиков (%)	Остаточные исходные гомодимеры, компонент 1 (%)	Остаточные исходные гомодимеры, компонент 2 (%)	Полисорбат 20 (%)
0	78,614	18,151	3,235	0,0	1,7762	0,037
1	76,315	19,929	3,756	0,0000	1,6930	0,034
3	74,789	21,034	4,177	0,0000	1,9191	0,031
6	70,185	24,687	5,129	0,0000	2,2926	0,033
9	68,524	25,735	5,741	0,0000	2,6209	0,034
12	63,3	30,4	6,3	0,0000	2,99994	0,0358

Таблица 21. Результаты исследования стабильности лекарственного препарата теклистамаба 90 мг/мл, который хранили при 25 °С (продолжение)

Месяцы	Посттрансляционная модификация		
	Окисление Met253 HC BCMA / Met257 HC CD3	Дезамидирование Asn103/Asn106 HC CD3	Изомеризация Asp101 HC BCMA
	(%)	(%)	(%)
0	3,4	12,6	5,4
3	3,9	14,6	17,0
6	4,6	14,0	22,9
9	Н/П*	Н/П*	Н/П*
12	4,8	19,4	24,2

\*запланированное тестирование на указанный момент времени отменено.

Данные для 40 °С

Таблица 22. Результаты исследования стабильности лекарственного препарата теклистамаба 90 мг/мл, который хранили при 40 °С							
Месяцы	Цвет раствора	рН	Мутность (НЕМ)	Твердые частицы		кДСН (в восстанавливающих условиях)	
				Невидимые		Чистота: %	новые пики
				≥ 10 мкм: частиц на флакон	≥ 25 мкм: частиц на флакон		
0	≤ ВУ6, ≤ В6, ≤ У6	5,18	4,7	46	1,74	98,97	Отсутствие нового пика > 1,0% по сравнению с эталонным материалом
1	≤ В6, ≤ ВУ5, ≤ У5	5,30	5,6	51,74	1,74	97,856	Отсутствие нового пика > 1,0% по сравнению с эталонным материалом
3	≤ В6, ≤ ВУ6, ≤ У5	5,27	7,1	134,14	7,06	94,740	Отсутствие нового пика > 1,0% по сравнению с эталонным материалом
6	≤ В5, ≤ ВУ5, ≤ У5	5,34	9,7	279,20	14,00	90,948	Отсутствие нового пика > 1,0% по сравнению с эталонным материалом

Таблица 22. Результаты исследования стабильности лекарственного препарата теклистамаба 90 мг/мл, который хранили при 40 °С (продолжение)							
Месяцы	кДСН (в невосстанавливающих условиях)		эВЭЖХ			Конц. белка по А <sub>280</sub> (мг/мл)	Анализ активации Т-клеток для определения эффективности % активности эталонного материала
	Чистота (%)	Новый пик (%)	Основной компонент (%)	HMWS (%)	LMWS (%)		
0	98,5749	Отсутствие нового пика > 1,0% по сравнению с эталонным материалом	98,623	1,377	< 0,1	90,675	102

1	95,340	Отсутствие нового пика > 1,0% по сравнению с эталонным материалом	97,105	2,787	< 0,1	90,042	53
3	92,741	Отсутствие нового пика > 1,0% по сравнению с эталонным материалом	93,835	5,864	< 0,1	90,549	20
6	86,984	Отсутствие нового пика > 1,0% по сравнению с эталонным материалом	85,581	13,781	< 0,1	90,127	21

Таблица 22. Результаты исследования стабильности лекарственного препарата теклистамаба 90 мг/мл, который хранили при 40 °С (продолжение)

Месяцы	Ионообменная ВЭЖХ					Поли-сорбат 20
	Главный пик (%)	Сумма кислотных пиков (%)	Сумма основных пиков (%)	Остаточные исходные гомодимеры, компонент 1 (%)	Остаточные исходные гомодимеры, компонент 2 (%)	(%)
0	78,614	18,151	3,235	0,0	1,7762	0,037
1	69,409	24,879	5,712	0,0000	2,5190	0,031
3	54,371	35,690	9,939	0,0000	4,3034	0,026
6	34,730	47,853	17,417	0,0000	9,8809	0,024

Таблица 22. Результаты исследования стабильности лекарственного препарата теклистамаба 90 мг/мл, который хранили при 40 °С (продолжение)

Месяцы	Посттрансляционная модификация		
	Окисление Met253 HC BCMA / Met257 HC CD3	Деаμιдирование Asn103/Asn106 HC CD3	Изомеризация Asp101 HC BCMA
	(%)	(%)	(%)
0	3,4	12,6	5,4
1	4,2	17,2	24,3
3	6,6	25,5	48,6
6	13,2	36,6	60,8

**[00316] Пример 11. Описание исследования стабильности 10 мг/мл**

**[00317]** Данное исследование проводили для отслеживания показателей лекарственного препарата теклистамаба 10 мг/мл, определяющих стабильность при различных условиях окружающей среды и сроках. Исследуемые тестируемые

5 препараты получали путем аликвотирования нерасфасованного препарата во флаконы 6R до объема заполнения 3,5 мл. Флаконы закупоривали, накрывали крышкой и герметизировали путем обжатия

**[00318]** Все исследования должны были проводиться с флаконами в перевернутом положении.

10 Таблица 23. Параметры исследования

Классификация стабильности	Условия хранения	Продолжительность (месяцы)
В реальном времени	$5 \pm 3 \text{ } ^\circ\text{C}$	36
Форсированные	$25 \pm 2 \text{ } ^\circ\text{C} / 60\%$ относительной влажности (RH)	12
Стрессовые	$40 \pm 2 \text{ } ^\circ\text{C} / 75\%$ RH	6

**[00319] Результаты исследования стабильности**

**[00320]** Результаты исследования стабильности для ЛП теклистамаба, выдержанного в рекомендуемых, форсированных и стрессовых условиях, приведены ниже. В любой момент времени для ЛП, выдерживаемого в рекомендуемых условиях хранения, все значения результатов для тестируемых параметров, наблюдаемые в рамках каждого количественного исследования, превосходили критерии, соответствующие наиболее предпочтительному варианту осуществления стабильности при выдерживании после хранения в течение около 12 месяцев или более и при температуре около  $5 \text{ } ^\circ\text{C}$  и/или

15 после хранения в течение около 2 лет или более и при температуре около  $5 \text{ } ^\circ\text{C}$ .

20 Аналогичным образом результаты пептидной карты отражали практически полное отсутствие изменений с течением времени в измеренном процентном показателе посттрансляционной модификации.

**[00321]** Результаты для ЛП теклистамаба, выдержанного в форсированных (25 ± 2 °C / 60% RH) и стрессовых (40 ± 2 °C / 75% RH) условиях, показали ожидаемые скорости деградации лекарственного препарата, подвергнутого длительному воздействию форсированных и стрессовых условий хранения. Следует особо отметить,

25

что большинство значений результатов тестируемых параметров, наблюдаемых в ходе количественного исследования ЛП, выдержанного в форсированных условиях (25 °С) в течение 12 месяцев, показали результаты, соответствующие наиболее предпочтительному варианту осуществления стабильности или превышающие его, при этом все остальные результаты, за исключением одного, соответствуют предпочтительным или описанным вариантам осуществления.

**Данные для 5 °С**

Таблица 24. Результаты исследования стабильности лекарственного препарата теклистамаба 10 мг/мл, который хранили при 5 °С							
Месяцы	Цвет раствора	рН	Мутность (НЕМ)	Твердые частицы		кДСН (в восстанавливающих условиях)	
				Невидимые		Чистота: %	новые пики
				≥ 10 мкм: частиц на флакон	≥ 25 мкм: частиц на флакон		
0	≤ В9, ≤ ВУ7, ≤ У7	5,18	4,1	38,25	0,70	98,843	Отсутствие нового пика > 1,0% по сравнению с эталонным материалом
3	≤ В9, ≤ ВУ7, ≤ У7	5,11	4,3	66,04	3,50	98,885	Отсутствие нового пика > 1,0% по сравнению с эталонным материалом
6	≤ В8, ≤ ВУ7, ≤ У7	5,12	4,0	25,65	0,45	98,858	Отсутствие нового пика > 1,0% по сравнению с эталонным материалом
9	≤ В8, ≤ ВУ7, ≤ У6	5,19	4,1	30,80	0,70	98,919	Отсутствие нового пика > 1,0% по сравнению с эталонным материалом
12	≤ В9, ≤ ВУ7, ≤ У7	5,17	4,2	31,04	0,94	98,810	Отсутствие нового пика > 1,0% по сравнению с эталонным материалом
18	≤ В8, ≤ ВУ7, ≤ У7	5,17	4,8	37,55	0,70	98,828	Отсутствие нового пика > 1,0% по сравнению с эталонным материалом

24	$\leq B_6$ , $\leq BY_6$ , $\leq Y_6$	5,2	4,1	38	0	98,7	Отсутствие нового пика > 1,0% по сравнению с эталонным материалом
36							

Таблица 24. Результаты исследования стабильности лекарственного препарата теклистамаба 10 мг/мл, который хранили при 5 °С (продолжение)

Месяцы	кДСН (в невосстанавливающих условиях)		эВЭЖХ			Конц. белка по A <sub>280</sub> (мг/мл)	Анализ активации Т-клеток для определения эффективности % активности эталонного материала
	Чистота (%)	Новый пик (%)	Основной компонент (%)	HMWS (%)	LMWS (%)		
0	98,573	Отсутствие нового пика > 1,0% по сравнению с эталонным материалом	99,352	0,648	< 0,1	9,763	95
3	98,635	Отсутствие нового пика > 1,0% по сравнению с эталонным материалом	99,359	0,641	< 0,1	9,800	104
6	98,574	Отсутствие нового пика > 1,0% по сравнению с эталонным материалом	99,274	0,726	< 0,1	9,684	93
9	97,933	Отсутствие нового пика > 1,0% по сравнению с эталонным материалом	99,293	0,707	< 0,1	9,926	91
12	98,139	Отсутствие нового пика > 1,0% по сравнению с эталонным материалом	99,299	0,701	< 0,1	10,011	98

18	98,589	Отсутствие нового пика > 1,0% по сравнению с эталонным материалом	99,257	0,743	< 0,1	9,831	90
24	98,5	Отсутствие нового пика > 1,0% по сравнению с эталонным материалом	99,2	0,8	< 0,1	9,7	87
36							

Таблица 24. Результаты исследования стабильности лекарственного препарата теклистамаба 10 мг/мл, который хранили при 5 °С (продолжение)

Месяцы	Ионообменная ВЭЖХ					Полисорбат 20
	Главный пик (%)	Сумма кислотных пиков (%)	Сумма основных пиков (%)	Остаточные исходные гомодимеры, компонент 1 (%)	Остаточные исходные гомодимеры, компонент 2 (%)	(%)
0	76,645	19,958	3,397	0,0000	1,6503	0,038
3	76,722	19,975	3,303	0,0000	1,6604	0,039
6	76,292	20,303	3,405	0,0000	1,3380	0,038
9	75,040	21,318	3,642	0,0000	1,0150	0,038
12	75,623	20,627	3,750	0,0000	1,4741	0,038
18	74,580	21,464	3,956	0,0000	1,1939	0,038
24	75,1	21,3	3,6	0,0000	0,9577	0,0378
36						

Таблица 24. Результаты исследования стабильности лекарственного препарата теклистамаба 10 мг/мл, который хранили при 5 °С (продолжение)

Месяцы	Посттрансляционная модификация		
	Окисление Met253 HC BCMA / Met257 HC CD3	Дезамидирование Asn103/Asn106 HC CD3	Изомеризация Asp101 HC BCMA
	(%)	(%)	(%)
0	3,9	13,3	5,3
3	3,1	13,4	5,6
6	3,8	13,4	7,2
9	4,8	14,3	7,0
12	3,6	13,1	8
18	3,3	13,0	8,7
24	3,7	13,1	9,1
36			

Данные для 25 °С

Таблица 25. Результаты исследования стабильности лекарственного препарата теклистамаба 10 мг/мл, который хранили при 25 °С							
Месяцы	Цвет раствора	рН	Мутность	Твердые частицы		кДСН (в восстанавливающих условиях)	
				Невидимые		Чистота: %	новые пики
			(НЕМ)	≥ 10 мкм: частиц на флакон	≥ 25 мкм: частиц на флакон		
0	≤ В9, ≤ ВУ7, ≤ Y7	5,18	4,1	38,25	0,70	98,843	Отсутствие нового пика > 1,0% по сравнению с эталонным материалом
1	≤ В9, ≤ ВУ7, ≤ Y7	5,12	3,9	22,64	0,00	98,912	Отсутствие нового пика > 1,0% по сравнению с эталонным материалом
3	≤ В9, ≤ ВУ7, ≤ Y7	5,12	4,0	47,35	0,70	98,348	Отсутствие нового пика > 1,0% по сравнению с эталонным материалом
6	≤ В9, ≤ ВУ7, ≤ Y7	5,21	4,2	42,70	0,24	97,884	Отсутствие нового пика > 1,0% по сравнению с эталонным материалом
9	≤ В9, ≤ ВУ7, ≤ Y7	5,22	4,3	41,75	0,24	97,392	Отсутствие нового пика > 1,0% по сравнению с эталонным материалом
12	≤ ВУ6, ≤ В7, ≤ Y6	5,2	3,8	6,8	0,0	96,7	Отсутствие нового пика > 1,0% по сравнению с эталонным материалом

Таблица 25. Результаты исследования стабильности лекарственного препарата теклистамаба 10 мг/мл, который хранили при 25 °С (продолжение)							
Месяцы	кДСН (в невосстанавливающих условиях)		эВЭЖХ			Конц. белка по A <sub>280</sub> (мг/мл)	Анализ активации Т-клеток для определения эффективности % активности эталонного материала
	Чистота (%)	Новый пик (%)	Основной компонент (%)	HMWS (%)	LMWS (%)		
0	98,573	Отсутствие нового пика > 1,0% по сравнению с эталонным материалом	99,352	0,648	< 0,1	9,763	95
1	97,625	Отсутствие нового пика > 1,0% по сравнению с эталонным материалом	99,239	0,761	< 0,1	9,715	94
3	97,820	Отсутствие нового пика > 1,0% по сравнению с эталонным материалом	99,075	0,925	< 0,1	9,694	88
6	96,069	Отсутствие нового пика > 1,0% по сравнению с эталонным материалом	98,988	0,950	0,062	9,831	59
9	96,489	Отсутствие нового пика > 1,0% по сравнению с эталонным материалом	98,872	1,045	0,083	9,974	45
12	96,4	Отсутствие нового пика > 1,0% по сравнению с эталонным материалом	98,7	1,2	0,1	9,8	36

Таблица 25. Результаты исследования стабильности лекарственного препарата теклистамаба 10 мг/мл, который хранили при 25 °С (продолжение)						
Месяцы	Ионообменная ВЭЖХ					Полисорбат 20
	Главный пик (%)	Сумма кислотных пиков (%)	Сумма основных пиков (%)	Остаточные исходные гомодимеры, компонент 1 (%)	Остаточные исходные гомодимеры, компонент 2 (%)	(%)
0	76,645	19,958	3,397	0,0000	1,6503	0,038
1	76,412	20,152	3,436	0,0000	1,3668	0,038
3	73,018	23,108	3,874	0,0000	1,2430	0,038
6	67,970	27,495	4,535	0,0000	1,1820	0,037
9	65,021	29,970	5,009	0,0000	1,8747	0,036
12	59,3	35,4	5,3	0,0	2,4148	0,035

Таблица 25. Результаты исследования стабильности лекарственного препарата теклистамаба 10 мг/мл, который хранили при 25 °С (продолжение)			
Месяцы	Посттрансляционная модификация		
	Окисление Met253 HC BCMA / Met257 HC CD3	Деаμιдирование Asn103/Asn106 HC CD3	Изомеризация Asp101 HC BCMA
	(%)	(%)	(%)
0	3,9	13,3	5,3
3	4,1	16,5	17,4
6	5,2	16,3	25,6
9	Н/П*	Н/П*	Н/П*
12	5,1	23,3	38,2

\*запланированное тестирование на указанный момент времени отменено

#### Данные для 40 °С

Таблица 26. Результаты исследования стабильности лекарственного препарата теклистамаба 10 мг/мл, который хранили при 40 °С							
Месяцы	Цвет раствора	рН	Мутность	Твердые частицы		кДСН (в восстанавливающих условиях)	
				Невидимые		Чистота: %	новые пики
			(НЕМ)	≥ 10 мкм: частиц на флакон	≥ 25 мкм: частиц на флакон		
0	≤ В9, ≤ ВУ7, ≤ У7	5,18	4,1	0,038	38,25	0,70	Отсутствие нового пика > 1,0% по сравнению с эталонным материалом

1	$\leq B9,$ $\leq BY7,$ $\leq Y7$	5,14	3,6	0,037	30,55	0,45	Отсутствие нового пика > 1,0% по сравнению с эталонным материалом
3	$\leq B8,$ $\leq BY7,$ $\leq Y7$	5,16	4,3	0,034	79,55	0,45	Отсутствие нового пика > 1,0% по сравнению с эталонным материалом
6	$\leq B8,$ $\leq BY7,$ $\leq Y6$	5,27	5,3	0,033	52,04	0,24	Отсутствие нового пика > 1,0% по сравнению с эталонным материалом

Таблица 26. Результаты исследования стабильности лекарственного препарата теклистамаба 10 мг/мл, который хранили при 40 °С (продолжение)

Месяцы	кДСН (в невосстанавливающих условиях)		эВЭЖХ			Конц. белка по A <sub>280</sub> (мг/мл)	Анализ активации Т-клеток для определения эффективности % активности эталонного материала
	Чистота (%)	Новый пик (%)	Основной компонент (%)	HMWS (%)	LMWS (%)		
0	98,573	Отсутствие нового пика > 1,0% по сравнению с эталонным материалом	99,352	0,648	0,000	9,763	95
1	97,580	Отсутствие нового пика > 1,0% по сравнению с эталонным материалом	98,727	1,169	0,104	9,736	58
3	93,607	Отсутствие нового пика > 1,0% по сравнению с эталонным материалом	96,316	3,338	0,345	9,678	20

6	90,205	Отсутствие нового пика > 1,0% по сравнению с эталонным материалом	90,767	8,619	0,614	10,000	3
---	--------	---	--------	-------	-------	--------	---

Таблица 26. Результаты исследования стабильности лекарственного препарата теклистамаба 10 мг/мл, который хранили при 40 °С (продолжение)

Месяцы	Ионообменная ВЭЖХ					Полисорбат 20
	Главный пик (%)	Сумма кислотных пиков (%)	Сумма основных пиков (%)	Остаточные исходные гомодимеры, компонент 1 (%)	Остаточные исходные гомодимеры, компонент 2 (%)	(%)
0	78,614	18,151	3,235	0,0	1,7762	0,037
1	76,645	19,958	3,397	0,0000	1,6503	0,038
3	66,527	27,923	5,550	0,0000	1,9136	0,037
6	44,787	47,144	8,069	0,3452	2,6502	0,034

Таблица 26. Результаты исследования стабильности лекарственного препарата теклистамаба 10 мг/мл, который хранили при 40 °С (продолжение)

Месяцы	Посттрансляционная модификация		
	Окисление Met253 HC ВСМА / Met257 HC CD3	Дезамидирование Asn103/Asn106 HC CD3	Изомеризация Asp101 HC ВСМА
	(%)	(%)	(%)
0	3,9	13,3	5,3
1	4,1	19,7	23,3
3	7,4	35,2	50,9
6	14,5	47,1	62,0

## ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Стабильная водная фармацевтическая композиция, содержащая:

- 5 а) концентрацию от около 7,5 мг/мл до около 12,5 мг/мл биспецифического антитела к антигену созревания В-клеток (BCMA) / кластеру дифференцировки 3 (CD3) или его антигенсвязывающего фрагмента, при этом биспецифическое антитело к BCMA/CD3 или его антигенсвязывающий фрагмент содержит:
- 10 (1) первую тяжелую цепь (HC1), содержащую переменную область 1 (VH1) HC1, причем VH1 содержит определяющую комплементарность область 1 тяжелой цепи (HCDR1), HCDR2 и HCDR3, имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 1, 2 и 3 соответственно;
- 15 (2) первую легкую цепь (LC1), содержащую переменную область (VL1) LC1, причем VL1 содержит определяющую комплементарность область 1 легкой цепи (LCDR1), LCDR2 и LCDR3, имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 4, 5 и 6 соответственно;
- 20 (3) вторую тяжелую цепь (HC2), содержащую переменную область 2 (VH2) HC2, причем VH2 содержит определяющую комплементарность область 1 тяжелой цепи (HCDR1), HCDR2 и HCDR3, имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 11, 12 и 13 соответственно; и
- 25 (4) вторую легкую цепь (LC2), содержащую переменную область 2 (VL2) LC2, причем VL2 содержит определяющую комплементарность область 1 легкой цепи (LCDR1), LCDR2 и LCDR3, имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 14, 15 и 16 соответственно;
- 30 б) от около 10 мМ до около 20 мМ ацетата и/или фармацевтически приемлемой ацетатной соли;
- 30 в) от около 6% (масс./об.) до около 10% (масс./об.) сахарозы;
- д) от около 16 мкг/мл до около 24 мкг/мл этилендиаминтетрауксусной кислоты (EDTA);
- е) от около 0,01% до около 0,07% полисорбата 20; и
- ф) рН от около 4,7 до около 5,7.

2. Стабильная водная фармацевтическая композиция, содержащая:

а) концентрацию от около 76,5 мг/мл до около 103,5 мг/мл

биспецифического антитела к антигену созревания В-клеток (BCMA) / кластеру дифференцировки 3 (CD3) или его антигенсвязывающего фрагмента, при этом

5 биспецифическое антитело к BCMA/CD3 или его антигенсвязывающий фрагмент содержит:

(1) первую тяжелую цепь (HC1), содержащую переменную область 1 (VH1) HC1,

10 причем VH1 содержит определяющую комплементарность область 1 тяжелой цепи (HCDR1), HCDR2 и HCDR3, имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 1, 2 и 3 соответственно;

(2) первую легкую цепь (LC1), содержащую переменную область (VL1) LC1,

15 причем VL1 содержит определяющую комплементарность область 1 легкой цепи (LCDR1), LCDR2 и LCDR3, имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 4, 5 и 6 соответственно;

(3) вторую тяжелую цепь (HC2), содержащую переменную область 2 (VH2) HC2,

20 причем VH2 содержит определяющую комплементарность область 1 тяжелой цепи (HCDR1), HCDR2 и HCDR3, имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 11, 12 и 13 соответственно; и

(4) вторую легкую цепь (LC2), содержащую переменную область 2 (VL2) LC2,

25 причем VL2 содержит определяющую комплементарность область 1 легкой цепи (LCDR1), LCDR2 и LCDR3, имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 14, 15 и 16 соответственно;

б) от около 10 мМ до около 20 мМ ацетата и/или фармацевтически приемлемой ацетатной соли;

с) от около 6% (масс./об.) до около 10% (масс./об.) сахарозы;

30 д) от около 16 мкг/мл до около 24 мкг/мл этилендиаминтетрауксусной кислоты (EDTA);

е) от около 0,01% до около 0,07% полисорбата 20; и

ф) рН от около 4,7 до около 5,7.

3. Стабильная водная фармацевтическая композиция по п. 1 или 2, в которой биспецифическое антитело к ВСМА/CD3 содержит VH1, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 7, и VL1, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 8.
- 5 4. Стабильная водная фармацевтическая композиция по п. 1 или 2, в которой биспецифическое антитело к ВСМА/CD3 содержит HC, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 9, и LC1, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 10.
- 10 5. Стабильная водная фармацевтическая композиция по п. 1 или 2, в которой биспецифическое антитело к ВСМА/CD3 содержит VH2, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 17, и VL2, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 18.
- 15 6. Стабильная водная фармацевтическая композиция по п. 1 или 2, в которой биспецифическое антитело к ВСМА/CD3 содержит HC2, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 19, и LC2, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 20.
7. Стабильная водная фармацевтическая композиция по п. 1 или 2, в которой биспецифическое антитело к ВСМА/CD3 представляет собой теклистамаб.
- 20 8. Стабильная водная фармацевтическая композиция по п. 1, в которой биспецифическое антитело к ВСМА/CD3 имеет концентрацию от около 8 мг/мл до около 12 мг/мл.
9. Стабильная водная фармацевтическая композиция по п. 8, в которой биспецифическое антитело к ВСМА/CD3 имеет концентрацию от около 9 мг/мл до около 11 мг/мл.
- 25 10. Стабильная водная фармацевтическая композиция по п. 9, в которой биспецифическое антитело к ВСМА/CD3 имеет концентрацию около 10 мг/мл.
11. Стабильная водная фармацевтическая композиция по п. 2, в которой биспецифическое антитело к ВСМА/CD3 имеет концентрацию от около 85 мг/мл до около 95 мг/мл.
- 30 12. Стабильная водная фармацевтическая композиция по п. 11, в которой биспецифическое антитело к ВСМА/CD3 имеет концентрацию от около 87 мг/мл до около 93 мг/мл.
13. Стабильная водная фармацевтическая композиция по п. 12, в которой биспецифическое антитело к ВСМА/CD3 имеет концентрацию около 90 мг/мл.

14. Стабильная водная фармацевтическая композиция по п. 1 или 2, содержащая от около 12 мМ до около 18 мМ ацетата и/или фармацевтически приемлемой ацетатной соли.
15. Стабильная водная фармацевтическая композиция по п. 1 или 2, содержащая от  
5 около 14 мМ до около 16 мМ ацетата и/или фармацевтически приемлемой ацетатной соли.
16. Стабильная водная фармацевтическая композиция по п. 1 или 2, содержащая около 15 мМ ацетата и/или фармацевтически приемлемой ацетатной соли.
17. Стабильная водная фармацевтическая композиция по п. 1 или 2, содержащая от  
10 около 7% (масс./об.) до около 9% (масс./об.) сахарозы.
18. Стабильная водная фармацевтическая композиция по п. 17, содержащая около 8% (масс./об.) сахарозы.
19. Стабильная водная фармацевтическая композиция по п. 1 или 2, содержащая от около 18 мкг/мл до около 22 мкг/мл EDTA.
- 15 20. Стабильная водная фармацевтическая композиция по п. 1 или 2, содержащая около 20 мкг/мл EDTA.
21. Стабильная водная фармацевтическая композиция по п. 1 или 2, содержащая от около 0,02% до около 0,06% полисорбата 20 (PS-20).
22. Стабильная водная фармацевтическая композиция по п. 21, содержащая от  
20 около 0,03 до около 0,05% PS-20.
23. Стабильная водная фармацевтическая композиция по п. 22, содержащая около 0,04% PS-20.
24. Стабильная водная фармацевтическая композиция по п. 1 или 2, рН которой составляет от около 4,8 до около 5,6.
- 25 25. Стабильная водная фармацевтическая композиция по п. 23, рН которой составляет от около 4,9 до около 5,5.
26. Стабильная водная фармацевтическая композиция по п. 25, рН которой составляет около 5,2.
27. Стабильная водная фармацевтическая композиция по п. 1, содержащая 10 мг/мл  
30 биспецифического антитела к ВСМА/CD3, 15 мМ ацетата и/или фармацевтически приемлемой ацетатной соли, 8% (масс./об.) сахарозы, 20 мкг/мл EDTA, 0,04% PS 20, с рН 5,2.

28. Стабильная водная фармацевтическая композиция по п. 1 или 2, которая является стабильной при температуре около 2–8 °С в течение по меньшей мере двух лет.
29. Стабильная водная фармацевтическая композиция по п. 1 или 2, стабильность которой определяют на основании цвета раствора, рН, мутности, чистоты в процентах, процентного содержания новых пиков, процентного содержания основного компонента, процентного содержания высокомолекулярных соединений (HWMS), процентного содержания низкомолекулярных соединений (LMWS), процентного содержания суммы кислотных пиков, процентного содержания суммы щелочных пиков, концентрации белка, процентного показателя активации Т-клеток, процентного содержания PS 20 (масс./об.) или любой их комбинации.
30. Способ лечения рака у субъекта, нуждающегося в этом, в котором субъекту вводят стабильную водную фармацевтическую композицию по п. 1 или 2.
31. Способ по п. 30, в котором введение является подкожным.
32. Способ получения стабильной водной фармацевтической композиции биспецифического антитела к антигену созревания В-клеток (BCMA) / кластеру дифференцировки 3 (CD3) или его антигенсвязывающего фрагмента, при этом биспецифическое антитело к BCMA/CD3 или его антигенсвязывающий фрагмент содержит:
- (1) первую тяжелую цепь (HC1), содержащую переменную область 1 (VH1) HC1, причем VH1 содержит определяющую комплементарность область 1 тяжелой цепи (HCDR1), HCDR2 и HCDR3, имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 1, 2 и 3 соответственно;
  - (2) первую легкую цепь (LC1), содержащую переменную область (VL1) LC1, причем VL1 содержит определяющую комплементарность область 1 легкой цепи (LCDR1), LCDR2 и LCDR3, имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 4, 5 и 6 соответственно;
  - (3) вторую тяжелую цепь (HC2), содержащую переменную область 2 (VH2) HC2, причем VH2 содержит определяющую комплементарность область 1 тяжелой цепи (HCDR1), HCDR2 и HCDR3, имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 11, 12 и 13 соответственно; и

- (4) вторую легкую цепь (LC2), содержащую вариабельную область 2 (VL2) LC2, причем VL2 содержит определяющую комплементарность область 1 легкой цепи (LCDR1), LCDR2 и LCDR3, имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 14, 15 и 16 соответственно;

5

способ включает объединение композиции, содержащей около 10 мг/мл биспецифического антитела к ВСМА/CD3, около 15 мМ ацетата и/или фармацевтически приемлемой ацетатной соли, около 8% (масс./об.) сахарозы, около 20 мг/мл EDTA и около 0,04% полисорбата (PS) 20, причем стабильная водная фармацевтическая композиция имеет рН около 5,2.

10

33. Способ получения стабильной водной фармацевтической композиции биспецифического антитела к антигену созревания В-клеток (ВСМА) / кластеру дифференцировки 3 (CD3) или его антигенсвязывающего фрагмента, при этом биспецифическое антитело к ВСМА/CD3 или его антигенсвязывающий фрагмент содержит:

15

- (1) первую тяжелую цепь (HC1), содержащую вариабельную область 1 (VH1) HC1, причем VH1 содержит определяющую комплементарность область 1 тяжелой цепи (HCDR1), HCDR2 и HCDR3, имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 1, 2 и 3 соответственно;
- (2) первую легкую цепь (LC1), содержащую вариабельную область (VL1) LC1, причем VL1 содержит определяющую комплементарность область 1 легкой цепи (LCDR1), LCDR2 и LCDR3, имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 4, 5 и 6 соответственно;
- (3) вторую тяжелую цепь (HC2), содержащую вариабельную область 2 (VH2) HC2, причем VH2 содержит определяющую комплементарность область 1 тяжелой цепи (HCDR1), HCDR2 и HCDR3, имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 11, 12 и 13 соответственно; и
- (4) вторую легкую цепь (LC2), содержащую вариабельную область 2 (VL2) LC2, причем VL2 содержит определяющую комплементарность область 1 легкой цепи (LCDR1), LCDR2 и LCDR3, имеющие

20

25

30

аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 14, 15 и 16  
соответственно;

способ включает объединение композиции, содержащей около 90 мг/мл  
биспецифического антитела к ВСМА/CD3, около 15 мМ ацетата и/или

5 фармацевтически приемлемой ацетатной соли, около 8% (масс./об.) сахарозы, около  
20 мг/мл EDTA и около 0,04% полисорбата (PS) 20, причем стабильная водная  
фармацевтическая композиция имеет рН около 5,2.

34. Способ по п. 32 или 33, в котором биспецифическое антитело к ВСМА/CD3  
10 содержит VH1, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 7, и VL1,  
имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 8.

35. Способ по п. 32 или 33, в котором биспецифическое антитело к ВСМА/CD3  
содержит HC, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 9, и LC1,  
имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 10.

36. Способ по п. 32 или 33, в котором биспецифическое антитело к ВСМА/CD3  
15 содержит VH2, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 17, и VL2,  
имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 18.

37. Способ по п. 32 или 33, в котором биспецифическое антитело к ВСМА/CD3  
содержит HC2, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 19, и LC2,  
имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 20.

20 38. Способ по п. 32 или 33, в котором биспецифическое антитело к ВСМА/CD3  
представляет собой теклистамаб.

39. Набор, содержащий стабильную водную фармацевтическую композицию по п. 1  
или 2 и инструкции по применению.

40. Изделие, содержащее контейнер со стабильной водной фармацевтической  
25 композицией по п. 1 или 2.

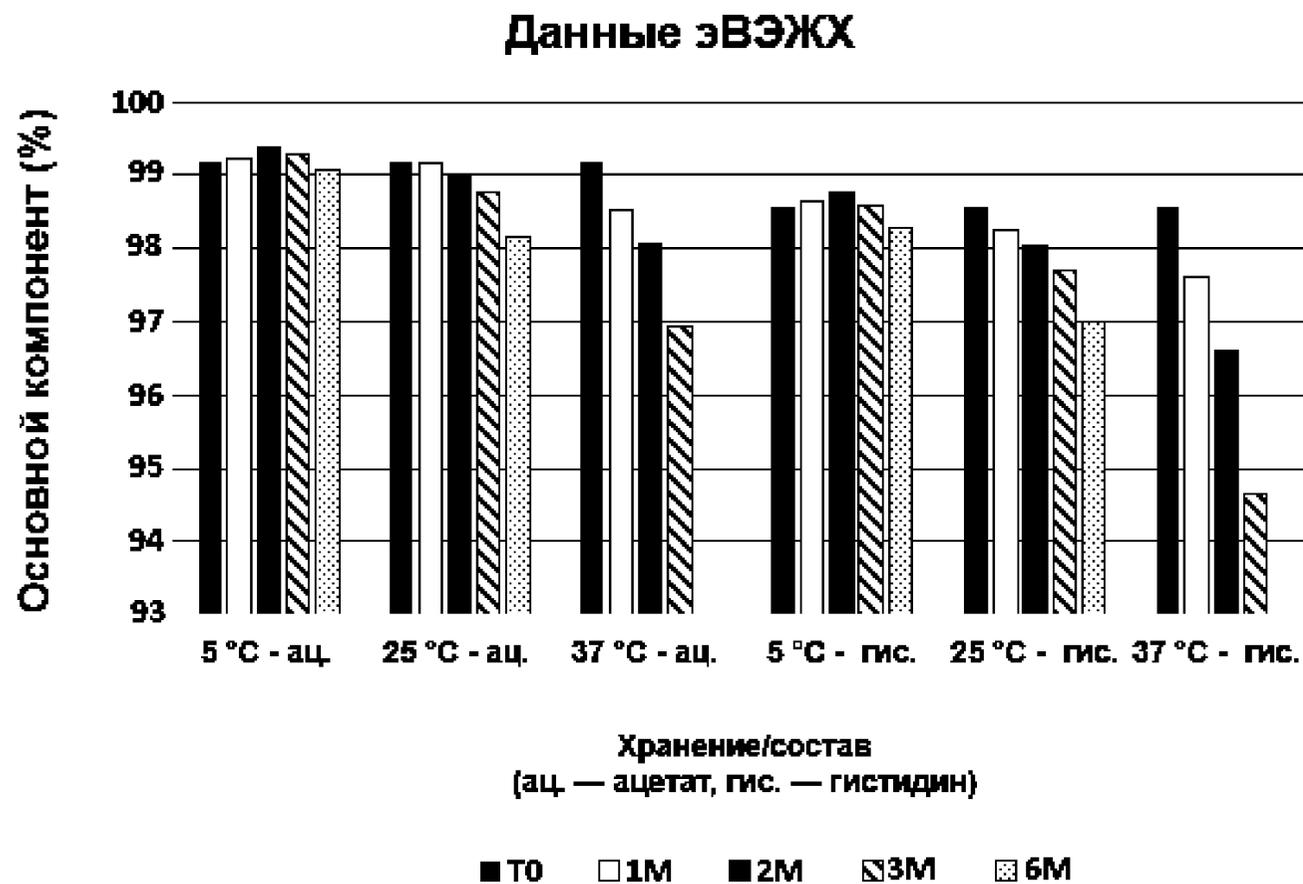
41. Изделие по п. 40, в котором контейнер представляет собой флакон с пробкой,  
прокалываемой шприцем.

42. Стабильная водная фармацевтическая композиция по п. 1 или 2 для применения  
в лечении рака.

30 43. Стабильная водная фармацевтическая композиция по п. 1 или 2 для применения  
в получении лекарственного препарата для лечения рака.

44. Применение стабильной водной фармацевтической композиции по п. 1 или 2  
для лечения субъекта, нуждающегося в этом, включающее введение стабильной водной  
фармацевтической композиции субъекту, нуждающемуся в этом.

45. Способ по п. 44, в котором введение является подкожным.



ФИГ. 1