

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(21) **202491297** (13) **A1**

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

(43) Дата публикации заявки
2024.07.12

(51) Int. Cl. *C07K 16/28* (2006.01)
A61K 39/395 (2006.01)
A61P 37/02 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

(22) Дата подачи заявки
2022.09.16

(54) **КОМПОЗИЦИЯ, СОДЕРЖАЩАЯ ФРАГМЕНТ, СВЯЗЫВАЮЩИЙ АНТИГЕН PD-L1, И ЕЕ ПРИМЕНЕНИЕ**

(31) 202111112052.4

(32) 2021.09.18

(33) CN

(86) PCT/CN2022/119187

(87) WO 2023/040999 2023.03.23

(71) Заявитель:

**ЦЗЯНСУ АЛЬФАМАБ
БИОФАРМАСЬЮТИКАЛС КО.,
ЛТД.; СУЧЖОУ АЛЬФАМАБ КО.,
ЛТД. (CN)**

(72) Изобретатель:

**Сюй Тин, Го Канпин, Юнь Лихун, У
Юаньли, Хуан Янь, Ху Хунцин (CN)**

(74) Представитель:

Нилова М.И. (RU)

(57) Настоящее изобретение относится к композиции, содержащей антигенсвязывающий фрагмент и вспомогательное вещество. Антигенсвязывающий фрагмент содержит одиночный варибельный домен иммуноглобулина, способный специфично связываться с PD-L1 и содержащий CDR1-3, причем CDR3 содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 47, а вспомогательное вещество может содержать пролин. Композиция обладает хорошей стабильностью и подходящей вязкостью и может быть использована для подкожной инъекции.

202491297
A1

202491297
A1

КОМПОЗИЦИЯ, СОДЕРЖАЩАЯ ФРАГМЕНТ, СВЯЗЫВАЮЩИЙ АНТИГЕН PD-L1, И ЕЕ ПРИМЕНЕНИЕ

ОБЛАСТЬ ТЕХНИКИ

- 5 Настоящее изобретение относится к области биомедицины и, в частности, к композиции, содержащей фрагмент, связывающий антиген PD-L1, и его применению.

УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

Экспрессия PD-L1 обнаружена при нескольких видах рака у мыши и человека, включая рак
10 легких, рак яичников, рак толстой кишки, меланому и различные миеломы человека. Существующие результаты показывают, что PD-L1 с высоким уровнем экспрессии на опухолевых клетках играет важную роль в ускользании опухоли от иммунного ответа за счет усиления апоптоза Т-клеток.

Лекарственные формы лекарственных средств на основе антител включают состав для
15 инъекции, лиофилизированный состав и т.п. Для часто используемых продуктов и постоянного применения предпочтительно подкожное введение. Это позволит пациенту обслуживать самого себя, повысить удобство, оперативность лечения и соблюдение пациентом режима лечения, сэкономить большое количество расходов на отделение медицинской помощи и улучшить качество жизни пациента.

20 Таким образом, существует потребность в разработке высококонцентрированных составов антител против PD-L1.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

В настоящем изобретении предложена композиция, содержащая антигенсвязывающий
фрагмент, специфично связывающийся с PD-L1, и вспомогательное вещество. Композиция
25 обладает по меньшей мере одним из следующих преимуществ: 1) содержанием антигенсвязывающего фрагмента в высокой концентрации (например, 200 мг/мл); 2) соответствующей вязкостью; 3) возможностью применения для подкожной инъекции и

облегчения боли субъекта; 4) хорошей стабильностью (например, стабильностью при ускоренном старении и/или долгосрочной стабильностью); 5) возможностью избежать побочных эффектов, вызванных переливанием; 6) простотой компонентов, получения и низкой стоимостью.

5 В настоящей заявке предложена композиция, содержащая антигенсвязывающий фрагмент и вспомогательное вещество, причем указанный антигенсвязывающий фрагмент содержит одиночный вариабельный домен иммуноглобулина, способный специфично связываться с PD-L1 и содержащий CDR1-3, причем указанный CDR3 содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 47, а указанное вспомогательное вещество
10 выбрано из одного или более соединений из группы, состоящей из: пролина, маннита, сахарозы, глицина и гидрохлорида L-аргинина.

В других вариантах реализации вспомогательное вещество также может быть выбрано из одного или более соединений из группы, состоящей из: пролина, сахарозы, маннита, сорбита, глицерина и гидрохлорида L-аргинина.

15 В определенных вариантах реализации вспомогательное вещество предпочтительно выбрано из одного или более соединений из группы, состоящей из: пролина, сахарозы, маннита, сорбита и глицерина; более предпочтительно, вспомогательное вещество представляет собой одно или более соединений из пролина, сахарозы, маннита и сорбита.

В определенных вариантах реализации вспомогательное вещество представляет собой L-
20 пролин, или вспомогательное вещество представляет собой сахарозу, или вспомогательное вещество представляет собой маннит, или вспомогательное вещество представляет собой сорбит.

В определенных вариантах реализации CDR2 содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 46.

25 В определенных вариантах реализации CDR1 содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 45 или 48.

В определенных вариантах реализации одиночный вариабельный домен иммуноглобулина содержит аминокислотную последовательность, представленную в любой из SEQ ID NO: 1-6.

В определенных вариантах реализации PD-L1 представляет собой PD-L1 человека.

- В определенных вариантах реализации антигенсвязывающий фрагмент содержит Fc-область иммуноглобулина.
- В определенных вариантах реализации N-конец Fc-области иммуноглобулина непосредственно или опосредованно связан с C-концом одиночного вариабельного домена иммуноглобулина.
- 5 В определенных вариантах реализации N-конец Fc-области иммуноглобулина связан с C-концом одиночного вариабельного домена иммуноглобулина посредством линкера.
- В определенных вариантах реализации линкер содержит аминокислотную последовательность, представленную в любой из SEQ ID NO: 42-44.
- 10 В определенных вариантах реализации Fc-область иммуноглобулина содержит Fc-область, полученную из иммуноглобулина, выбранного из группы, состоящей из: IgG1, IgG2, IgG3 и IgG4.
- В определенных вариантах реализации Fc-область иммуноглобулина не обладает активностью ADCC; и/или Fc-область иммуноглобулина не обладает активностью CDC.
- 15 В определенных вариантах реализации Fc-область иммуноглобулина получена из иммуноглобулина человека.
- В определенных вариантах реализации Fc-область иммуноглобулина получена из IgG человека.
- В определенных вариантах реализации Fc-область иммуноглобулина содержит аминокислотную последовательность, представленную в любой из SEQ ID NO: 7-9.
- 20 В определенных вариантах реализации антигенсвязывающий фрагмент содержит аминокислотную последовательность, представленную в любой из SEQ ID NO: 14-31.
- В определенных вариантах реализации антигенсвязывающий фрагмент находится в концентрации от приблизительно 1 мг/мл до приблизительно 300 мг/мл.
- 25 В определенных вариантах реализации антигенсвязывающий фрагмент находится в концентрации от приблизительно 5 мг/мл до приблизительно 250 мг/мл.
- В определенных вариантах реализации антигенсвязывающий фрагмент находится в концентрации от приблизительно 1 мг/мл до приблизительно 220 мг/мл.
- В определенных вариантах реализации антигенсвязывающий фрагмент находится в

концентрации от приблизительно 20 мг/мл до приблизительно 220 мг/мл.

В определенных вариантах реализации антигенсвязывающий фрагмент находится в концентрации от приблизительно 50 мг/мл до приблизительно 200 мг/мл.

5 В определенных вариантах реализации антигенсвязывающий фрагмент находится в концентрации от приблизительно 100 мг/мл до приблизительно 280 мг/мл.

В определенных вариантах реализации антигенсвязывающий фрагмент находится в концентрации от приблизительно 150 мг/мл до приблизительно 250 мг/мл.

В определенных вариантах реализации антигенсвязывающий фрагмент находится в концентрации от приблизительно 180 мг/мл до приблизительно 250 мг/мл.

10 В определенных вариантах реализации антигенсвязывающий фрагмент находится в концентрации от приблизительно 180 мг/мл до приблизительно 220 мг/мл.

В определенных вариантах реализации вспомогательное вещество находится в концентрации от приблизительно 50 мМ до приблизительно 500 мМ.

15 В определенных вариантах реализации вспомогательное вещество содержит пролин в концентрации от приблизительно 50 мМ до приблизительно 390 мМ.

В определенных вариантах реализации вспомогательное вещество содержит пролин в концентрации от приблизительно 150 мМ до приблизительно 250 мМ.

В определенных вариантах реализации вспомогательное вещество содержит пролин в концентрации от приблизительно 150 мМ до приблизительно 220 мМ.

20 В определенных вариантах реализации вспомогательное вещество содержит L-пролин в концентрации от приблизительно 150 мМ до приблизительно 220 мМ.

В определенных вариантах реализации вспомогательное вещество содержит L-пролин в концентрации от приблизительно 165 мМ до приблизительно 275 мМ.

25 В определенных вариантах реализации вспомогательное вещество содержит маннит в концентрации от приблизительно 50 мМ до приблизительно 500 мМ.

В определенных вариантах реализации вспомогательное вещество содержит сахарозу в концентрации от приблизительно 50 мМ до приблизительно 500 мМ.

В определенных вариантах реализации вспомогательное вещество содержит сахарозу в концентрации от приблизительно 90 мМ до приблизительно 500 мМ.

В определенных вариантах реализации вспомогательное вещество содержит глицин в концентрации от приблизительно 50 мМ до приблизительно 500 мМ.

В определенных вариантах реализации вспомогательное вещество содержит глицин в концентрации от приблизительно 150 мМ до приблизительно 250 мМ.

5 В определенных вариантах реализации вспомогательное вещество содержит гидрохлорид L-аргинина в концентрации от приблизительно 50 мМ до приблизительно 500 мМ.

В определенных вариантах реализации вспомогательное вещество содержит гидрохлорид L-аргинина в концентрации от приблизительно 150 мМ до приблизительно 500 мМ.

10 В определенных вариантах реализации вспомогательное вещество содержит сорбит в концентрации от приблизительно 50 мМ до приблизительно 500 мМ.

В определенных вариантах реализации вспомогательное вещество содержит сорбит в концентрации от приблизительно 100 мМ до приблизительно 300 мМ.

В определенных вариантах реализации вспомогательное вещество содержит глицерин в концентрации от 50 мМ до приблизительно 500 мМ.

15 В определенных вариантах реализации вспомогательное вещество содержит глицерин в концентрации от приблизительно 100 мМ до приблизительно 300 мМ.

В определенных вариантах реализации рН композиции составляет от приблизительно 5,0 до приблизительно 7,5.

20 В определенных вариантах реализации рН композиции составляет от приблизительно 5,9 до приблизительно 6,9.

В определенных вариантах реализации рН композиции составляет от приблизительно 6,3 до приблизительно 6,5.

В определенных вариантах реализации рН композиции составляет приблизительно 6,4.

25 В определенных вариантах реализации композиция содержит буферный компонент, причем буферный компонент выбран из одного или более компонентов из группы, состоящей из: ацетата натрия-уксусной кислоты, гистидина-уксусной кислоты, L-гистидина-гидрохлорида L-гистидина, фосфата натрия и лимонной кислоты-гидроксида натрия.

В определенных вариантах реализации буферный компонент выбран из одного или более компонентов из группы, состоящей из: ацетата натрия-уксусной кислоты, L-гистидина-

гидрохлорида L-гистидина и лимонной кислоты-гидроксида натрия; предпочтительно буферный компонент представляет собой ацетат натрия-уксусную кислоту или L-гистидин-гидрохлорид L-гистидина.

5 В определенных вариантах реализации буферный компонент находится в концентрации от приблизительно 5 мМ до приблизительно 50 мМ.

В определенных вариантах реализации буферный компонент содержит ацетат натрия-уксусную кислоту в концентрации от приблизительно 5 мМ до приблизительно 35 мМ.

В определенных вариантах реализации буферный компонент содержит ацетат натрия-уксусную кислоту в концентрации от приблизительно 10 мМ до приблизительно 30 мМ.

10 В определенных вариантах реализации буферный компонент содержит ацетат натрия-уксусную кислоту в концентрации приблизительно 20 мМ.

В определенных вариантах реализации буферный компонент содержит L-гистидин-гидрохлорид L-гистидина в концентрации от приблизительно 5 мМ до приблизительно 35 мМ, предпочтительно от приблизительно 10 мМ до приблизительно 30 мМ и более
15 предпочтительно 20 мМ. В определенных вариантах реализации композиция содержит поверхностно-активное вещество, причем поверхностно-активное вещество выбрано из одного или более веществ из группы, состоящей из: полисорбата 20, полисорбата 80 и полуксамера 188.

В определенных вариантах реализации поверхностно-активное вещество находится в
20 концентрации от приблизительно 0 мг/мл до приблизительно 0,8 мг/мл.

В определенных вариантах реализации поверхностно-активное вещество содержит полисорбат 20 в концентрации от приблизительно 0 мг/мл до приблизительно 0,4 мг/мл.

В определенных вариантах реализации поверхностно-активное вещество содержит полисорбат 20 в концентрации от приблизительно 0,2 мг/мл до приблизительно 0,4 мг/мл.

25 В определенных вариантах реализации поверхностно-активное вещество содержит полисорбат 20 в концентрации от приблизительно 0,1 мг/мл до приблизительно 0,3 мг/мл.

В определенных вариантах реализации поверхностно-активное вещество содержит полисорбат 20 в концентрации приблизительно 0,2 мг/мл.

В определенных вариантах реализации поверхностно-активное вещество содержит

полисорбат 80 в концентрации от приблизительно 0,05 мг/мл до приблизительно 1 мг/мл, предпочтительно от 0,1 мг/мл до 0,5 мг/мл, более предпочтительно от 0,1 мг/мл до 0,3 мг/мл и еще более предпочтительно 0,2 мг/мл.

В определенных вариантах реализации поверхностно-активное вещество содержит
5 полоксамер 188 в концентрации от приблизительно 0,05 мг/мл до приблизительно 5 мг/мл, предпочтительно от 0,1 мг/мл до приблизительно 3 мг/мл и более предпочтительно от 0,2 мг/мл до приблизительно 2 мг/мл.

В определенных вариантах реализации композиция содержит: 1) от приблизительно 20 мг/мл до приблизительно 220 мг/мл антигенсвязывающего фрагмента, описанного в настоящем
10 документе; 2) от приблизительно 5 мМ до приблизительно 35 мМ ацетата натрия-уксусной кислоты; 3) от приблизительно 50 мМ до приблизительно 390 мМ пролина; и 4) от приблизительно 0 мг/мл до приблизительно 0,4 мг/мл полисорбата 20; и рН композиции составляет от приблизительно 5,9 до приблизительно 6,9.

В определенных вариантах реализации композиция содержит: 1) от приблизительно 50 мг/мл до приблизительно 220 мг/мл антигенсвязывающего фрагмента, описанного в настоящем
15 документе; 2) от приблизительно 10 мМ до приблизительно 30 мМ ацетата натрия-уксусной кислоты; 3) от приблизительно 150 мМ до приблизительно 250 мМ пролина; и 4) от приблизительно 0,2 мг/мл до приблизительно 0,4 мг/мл полисорбата 20; и рН композиции составляет от приблизительно 6,3 до приблизительно 6,5.

В определенных вариантах реализации композиция содержит: 1) от приблизительно 150 мг/мл до приблизительно 250 мг/мл антигенсвязывающего фрагмента, описанного в настоящем
20 документе; 2) от приблизительно 10 мМ до приблизительно 30 мМ ацетата натрия-уксусной кислоты; 3) от приблизительно 150 мМ до приблизительно 250 мМ пролина; и 4) от приблизительно 0,2 мг/мл до приблизительно 0,4 мг/мл полисорбата 20; и рН композиции составляет от приблизительно 6,3 до приблизительно 6,5.
25

В определенных вариантах реализации композиция содержит: 1) приблизительно 200 мг/мл антигенсвязывающего фрагмента, описанного в настоящем документе; 2) приблизительно 20 мМ ацетат-уксусной кислоты натрия; 3) приблизительно 220 мМ пролина; и 4) приблизительно 0,2 мг/мл полисорбата 20; и рН композиции составляет приблизительно 6,4.

В определенных вариантах реализации композиция содержит: 1) от приблизительно 100 мг/мл до приблизительно 280 мг/мл антигенсвязывающего фрагмента, описанного в настоящем документе; 2) от приблизительно 5 мМ до приблизительно 35 мМ ацетата натрия-уксусной кислоты; 3) от приблизительно 50 мМ до приблизительно 500 мМ сахарозы; и 4) от 5 приблизительно 0,05 мг/мл до приблизительно 0,4 мг/мл полисорбата 20; и рН композиции составляет от приблизительно 5,9 до приблизительно 6,9.

В определенных вариантах реализации композиция содержит: 1) от приблизительно 150 мг/мл до приблизительно 250 мг/мл антигенсвязывающего фрагмента, описанного в настоящем документе; 2) от приблизительно 10 мМ до приблизительно 30 мМ ацетата натрия-уксусной 10 кислоты; 3) от приблизительно 50 мМ до приблизительно 300 мМ сахарозы; и 4) от приблизительно 0,1 мг/мл до приблизительно 0,3 мг/мл полисорбата 20; и рН композиции составляет от приблизительно 6,3 до приблизительно 6,5.

В определенных вариантах реализации композиция содержит: 1) от приблизительно 100 мг/мл до приблизительно 280 мг/мл антигенсвязывающего фрагмента, описанного в настоящем 15 документе; 2) от приблизительно 5 мМ до приблизительно 35 мМ ацетата натрия-уксусной кислоты; 3) от приблизительно 50 мМ до приблизительно 500 мМ маннита; и 4) от приблизительно 0,05 мг/мл до приблизительно 0,4 мг/мл полисорбата 20; и рН композиции составляет от приблизительно 5,9 до приблизительно 6,9.

В определенных вариантах реализации композиция содержит: 1) от приблизительно 150 мг/мл до приблизительно 250 мг/мл антигенсвязывающего фрагмента, описанного в настоящем 20 документе; 2) от приблизительно 10 мМ до приблизительно 30 мМ ацетата натрия-уксусной кислоты; 3) от приблизительно 100 мМ до приблизительно 300 мМ маннита; и 4) от приблизительно 0,1 мг/мл до приблизительно 0,3 мг/мл полисорбата 20; и рН композиции составляет от приблизительно 6,3 до приблизительно 6,5.

25 В определенных вариантах реализации композиция содержит: 1) от приблизительно 100 мг/мл до приблизительно 280 мг/мл антигенсвязывающего фрагмента, описанного в настоящем документе; 2) от приблизительно 5 мМ до приблизительно 35 мМ ацетата натрия-уксусной кислоты; 3) от приблизительно 50 мМ до приблизительно 500 мМ сорбита; и 4) от приблизительно 0,05 мг/мл до приблизительно 0,4 мг/мл полисорбата 20; и рН композиции

составляет от приблизительно 5,9 до приблизительно 6,9.

В определенных вариантах реализации композиция содержит: 1) от приблизительно 150 мг/мл до приблизительно 250 мг/мл антигенсвязывающего фрагмента, описанного в настоящем документе; 2) от приблизительно 10 мМ до приблизительно 30 мМ ацетата натрия-уксусной кислоты; 3) от приблизительно 100 мМ до приблизительно 300 мМ сорбита; и 4) от приблизительно 0,1 мг/мл до приблизительно 0,3 мг/мл полисорбата 20; и рН композиции составляет от приблизительно 6,3 до приблизительно 6,5.

В определенных вариантах реализации композиция содержит: 1) от приблизительно 100 мг/мл до приблизительно 280 мг/мл антигенсвязывающего фрагмента, описанного в настоящем документе; 2) от приблизительно 5 мМ до приблизительно 35 мМ ацетата натрия-уксусной кислоты; 3) от приблизительно 50 мМ до приблизительно 500 мМ глицерина; и 4) от приблизительно 0,05 мг/мл до приблизительно 0,4 мг/мл полисорбата 20; и рН композиции составляет от приблизительно 5,9 до приблизительно 6,9.

В определенных вариантах реализации композиция содержит: 1) от приблизительно 150 мг/мл до приблизительно 250 мг/мл антигенсвязывающего фрагмента, описанного в настоящем документе; 2) от приблизительно 10 мМ до приблизительно 30 мМ ацетата натрия-уксусной кислоты; 3) от приблизительно 100 мМ до приблизительно 300 мМ глицерина; и 4) от приблизительно 0,1 мг/мл до приблизительно 0,3 мг/мл полисорбата 20; и рН композиции составляет от приблизительно 6,3 до приблизительно 6,5.

В определенных вариантах реализации композиция содержит: 1) от приблизительно 150 мг/мл до приблизительно 250 мг/мл антигенсвязывающего фрагмента, описанного в настоящем документе; 2) от приблизительно 10 мМ до приблизительно 30 мМ L-гистидина-гидрохлорида L-гистидина; 3) от приблизительно 150 мМ до приблизительно 250 мМ пролина; и 4) от приблизительно 0,2 мг/мл до приблизительно 0,4 мг/мл полисорбата 20; и рН композиции составляет от приблизительно 6,3 до приблизительно 6,5.

В определенных вариантах реализации композиция содержит: 1) от приблизительно 150 мг/мл до приблизительно 250 мг/мл антигенсвязывающего фрагмента, описанного в настоящем документе; 2) от приблизительно 10 мМ до приблизительно 30 мМ L-гистидина-гидрохлорида L-гистидина; 3) от приблизительно 50 мМ до приблизительно 300 мМ сахарозы; и 4) от

приблизительно 0,1 мг/мл до приблизительно 0,3 мг/мл полисорбата 20; и рН композиции составляет от приблизительно 6,3 до приблизительно 6,5.

В определенных вариантах реализации композиция содержит: 1) от приблизительно 150 мг/мл до приблизительно 250 мг/мл антигенсвязывающего фрагмента, описанного в настоящем документе; 2) от приблизительно 10 мМ до приблизительно 30 мМ L-гистидина-гидрохлорида L-гистидина; 3) от приблизительно 100 мМ до приблизительно 300 мМ маннита; и 4) от приблизительно 0,1 мг/мл до приблизительно 0,3 мг/мл полисорбата 20; и рН композиции составляет от приблизительно 6,3 до приблизительно 6,5.

В определенных вариантах реализации композиция содержит: 1) от приблизительно 150 мг/мл до приблизительно 250 мг/мл антигенсвязывающего фрагмента, описанного в настоящем документе; 2) от приблизительно 10 мМ до приблизительно 30 мМ L-гистидина-гидрохлорида L-гистидина; 3) от приблизительно 100 мМ до приблизительно 300 мМ сорбита; и 4) от приблизительно 0,1 мг/мл до приблизительно 0,3 мг/мл полисорбата 20; и рН композиции составляет от приблизительно 6,3 до приблизительно 6,5.

В определенных вариантах реализации композиция содержит: 1) от приблизительно 150 мг/мл до приблизительно 250 мг/мл антигенсвязывающего фрагмента, описанного в настоящем документе; 2) от приблизительно 10 мМ до приблизительно 30 мМ L-гистидина-гидрохлорида L-гистидина; 3) от приблизительно 100 мМ до приблизительно 300 мМ глицерина; и 4) от приблизительно 0,1 мг/мл до приблизительно 0,3 мг/мл полисорбата 20; и рН композиции составляет от приблизительно 6,3 до приблизительно 6,5.

В определенных вариантах реализации композицию применяют для инъекций.

В определенных вариантах реализации композицию применяют для подкожной инъекции.

В определенных вариантах реализации композиция представляет собой состав.

В определенных вариантах реализации композиция представляет собой жидкий состав.

В еще одном аспекте настоящего изобретения предложен набор, содержащий композицию, описанную в настоящем документе, и контейнер, в котором находится композиция, описанная в настоящем документе.

В определенных вариантах реализации контейнер содержит стеклянный флакон.

В определенных вариантах реализации объем композиции в контейнере составляет от

приблизительно 0,5 мл до приблизительно 5,0 мл.

В определенных вариантах реализации объем композиции в контейнере составляет от приблизительно 0,5 мл до приблизительно 1,5 мл.

В еще одном аспекте настоящего изобретения предложено применение композиции, описанной в настоящем документе, и/или набора, описанного в настоящем документе, для получения лекарственного средства для профилактики, облегчения и/или лечения опухоли.

В определенных вариантах реализации опухоль включает PD-L1-положительную опухоль.

В определенных вариантах реализации опухоль включает злокачественную солидную опухоль.

В еще одном аспекте настоящего изобретения предложено применение композиции, описанной в настоящем документе, и/или набора, описанного в настоящем документе, для получения лекарственного средства для профилактики, облегчения и/или лечения инфекционного заболевания.

В определенных вариантах реализации инфекционное заболевание включает заболевание, вызванное вирусной инфекцией, бактериальной инфекцией, грибковой инфекцией и/или паразитарной инфекцией.

Другие аспекты и преимущества настоящей заявки будут очевидны для специалистов в данной области техники после ознакомления с приведенным ниже подробным описанием. В приведенном ниже подробном описании показаны и описаны только типичные варианты реализации настоящего изобретения. Специалисты в данной области техники должны понимать, что содержание настоящей заявки позволяет специалистам в данной области техники вносить изменения в конкретные варианты реализации, описанные в настоящем документе, не отступая от сущности и рамок настоящего изобретения, включенного в настоящую заявку. Соответственно, описания на чертежах и в тексте заявки носят исключительно иллюстративный, а не ограничивающий характер.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ЧЕРТЕЖЕЙ

Конкретные признаки изобретения, включенного в настоящую заявку, изложены в

прилагаемой формуле изобретения. Признаки и преимущества изобретения, включенного в настоящую заявку, будут более понятны после обращения к типичным вариантам реализации и чертежам, подробно описанным ниже. Краткое описание чертежей приведено далее.

На фиг. 1 показаны результаты определения значений T_m формул составов, содержащих антигенсвязывающий фрагмент, описанный в настоящем документе.

На фиг. 2 показаны результаты определения тенденции составов, содержащих антигенсвязывающий фрагмент, описанный в настоящем документе, к агрегированию.

На фиг. 3 показаны результаты определения содержания основного пика эксклюзивной ВЭЖХ в формулах составов, содержащих антигенсвязывающий фрагмент, описанный в настоящем документе.

На фиг. 4 показаны результаты определения содержания агрегатов посредством эксклюзивной ВЭЖХ в формулах составов, содержащих антигенсвязывающий фрагмент, описанный в настоящем документе.

На фиг. 5 показаны результаты обнаружения кислого компонента посредством слабой катионообменной ВЭЖХ в формулах составов, содержащих антигенсвязывающий фрагмент, описанный в настоящем документе.

На фиг. 6 показаны результаты определения вязкости формул составов, содержащих антигенсвязывающий фрагмент, описанный в настоящем документе.

На фиг. 7 показаны результаты определения связывающей активности формул составов, содержащих антигенсвязывающий фрагмент, описанный в настоящем документе.

На фиг. 8 показаны результаты определения блокирующей активности формул составов, содержащих антигенсвязывающий фрагмент, описанный в настоящем документе.

На фиг. 9 показаны результаты определения содержания основного пика эксклюзивной ВЭЖХ в формулах составов, содержащих антигенсвязывающий фрагмент, описанный в настоящем документе.

На фиг. 10 показаны результаты определения содержания агрегатов посредством эксклюзивной ВЭЖХ в формулах составов антигенсвязывающего фрагмента, описанного в настоящем документе.

На фиг. 11 показаны результаты обнаружения кислого компонента посредством слабой

катионообменной ВЭЖХ в формулах составов антигенсвязывающего фрагмента, описанного в настоящей заявке.

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

5
Варианты реализации настоящего изобретения описаны ниже со ссылкой на конкретные примеры, и другие преимущества и эффекты настоящего изобретения будут очевидны для специалистов в данной области техники после ознакомления с настоящим описанием.

Определения терминов

В настоящей заявке термин «антигенсвязывающий фрагмент» в общем случае относится к одному или более фрагментам антитела, сохраняющим способность специфично
10 взаимодействовать с эпитопом антигена (например, путем связывания, стерической изоляции и т.п.). Антигенсвязывающая функция антитела также может достигаться: тяжелой цепью, содержащей фрагмент Fv, ScFv, dsFv, Fab, Fab' или F(ab')₂, или легкой цепью, содержащей фрагмент Fv, scFv, dsFv, Fab, Fab' или F(ab')₂. (1) Fab-фрагменты, т.е. одновалентные фрагменты, состоящие из доменов VL, VH, CL и CH; (2) F(ab')₂-фрагменты, двухвалентные
15 фрагменты, содержащие два Fab-фрагмента, соединенные дисульфидной связью в шарнирной области; (3) Fd-фрагменты, состоящие из доменов VH и CH; (4) Fv-фрагменты, состоящие из доменов VL и VH одного плеча антитела; (5) dAb-фрагменты, состоящие из доменов VH (Ward et al., (1989) *Nature* 341:544-546); (6) выделенные участки, определяющие комплементарность (CDR) и (7) комбинации двух или более выделенных CDR, необязательно связанных линкером.
20 Например, этот термин также может включать одновалентную одноцепочечную Fv-молекулу (scFv), образованную спариванием VL и VH (см. Bird et al., (1988) *Science* 242: 423-426; и Huston et al., (1988) *Proc.Natl.Acad.Sci.* 85: 5879-5883). Например, этот термин также может включать VHH-антитело, не содержащее легкой цепи антитела и содержащее только переменные области тяжелой цепи (см., например, Kang Xiaozhen et al., *Chinese Journal of Biotechnology*. 2018, 34(12): 1974-1984). «Антигенсвязывающий фрагмент» может также
25 включать гибридный иммуноглобулиновый белок, содержащий связывающий домен, выбранный из: (1) полипептида связывающего домена, соединенного с полипептидом шарнирной области иммуноглобулина; (2) константной области CH₂ тяжелой цепи

иммуноглобулина, соединенной с шарнирной областью; и (3) константной области СНЗ тяжелой цепи иммуноглобулина, соединенной с константной областью СН2.

В настоящей заявке термин «вспомогательное вещество» в общем случае относится к любому материалу, выбранному как желательный для любого типа или формы продукта, желательных для композиции. Например, форма продукта может включать жидкость, гранулы, порошок, пасту, аэрозоль, таблетки или гель. Вспомогательное вещество не может влиять на форму присутствия или стабильность антигенсвязывающего фрагмента или биологическую активность антигенсвязывающего фрагмента (например, специфичное связывание с соответствующим антигеном). В настоящей заявке вспомогательное вещество может действовать в качестве стабилизатора для улучшения стабильности композиции и/или стабильности антигенсвязывающего фрагмента в композиции.

В настоящей заявке термин «PD-L1» в общем случае относится к лиганду 1 белка 1 запрограммированной гибели клеток, который также может называться CD274 или B7H1. В настоящей заявке PD-L1 может представлять собой PD-L1 млекопитающего. Например, PD-L1 может быть получен из организма примата или грызуна (например, мыши или крысы). PD-L1 человека может обладать аминокислотной последовательностью, показанной в NCBI под номером доступа NP_054862.1. PD-L1 может включать нативный PD-L1, а также может включать варианты, изоформы, видовые гомологи PD-L1 и его аналоги, содержащие по меньшей мере один общий эпитоп с PD-L1.

В настоящей заявке термин «вариабельный домен иммуноглобулина» в общем случае относится к полипептидной молекуле, состоящей из четырех «каркасных областей», т.е. «каркасной области 1» или «FR1», «каркасной области 2» или «FR2», «каркасной области 3» или «FR3» и «каркасной области 4» или «FR4», и трех «участков, определяющих комплементарность» или «CDR», то есть «участка 1, определяющего комплементарность» или «CDR1», «участка 2, определяющего комплементарность» или «CDR2» и «участка 3, определяющего комплементарность» или «CDR3». Вариабельный домен иммуноглобулина может характеризоваться третичной структурой белка. В настоящей заявке вариабельный домен иммуноглобулина может обладать функцией специфичного связывания с антигеном (например, PD-L1). Вариабельный домен иммуноглобулина может содержать структуру FR1-

CDR1-FR2-CDR2-FR3-CDR3-FR4.

В настоящей заявке термин «одиночный переменный домен иммуноглобулина» в общем случае относится к переменному домену иммуноглобулина, независимо обладающему функцией специфического связывания с антигеном (например, PD-L1). Например, одиночный
5 переменный домен иммуноглобулина может специфично связываться с антигеном или его эпитопом без спаривания с другими переменными доменами иммуноглобулина. Например, одиночный переменный домен иммуноглобулина может представлять собой переменную область тяжелой цепи VH и/или переменную область легкой цепи VL. В настоящей заявке одиночный переменный домен иммуноглобулина может представлять собой VHH. В
10 настоящей заявке VHH может также называться антителом из тяжелых цепей, наноантителом или однодоменным антителом. CDR VHH можно подразделять в соответствии со способом Кабата (см. «Sequence of proteins of immunological interest», US Public Health Services, NIH Bethesda, MD). Например, в аминокислотной последовательности VHH аминокислоты в положениях 1-30 представляют собой FR1, аминокислоты в положениях 31-35 представляют собой CDR1, аминокислоты в положениях 36-49 представляют собой FR2, аминокислоты в положениях 50-65 представляют собой CDR2, аминокислоты в положениях 66-94 представляют собой FR3, аминокислоты в положениях 95-102 представляют собой CDR3, а аминокислоты в положениях 103-113 представляют собой FR4. Однако следует отметить, что
15 общее количество аминокислотных остатков в каждом CDR может варьироваться и не соответствовать общему количеству аминокислотных остатков, указанных в нумерации по Кабату (т.е. одно или более положений в соответствии с нумерацией по Кабату могут быть не заняты в фактической последовательности, или фактическая последовательность может содержать больше аминокислотных остатков, чем количество, разрешенное в нумерации по Кабату), и, следовательно, нумерация по Кабату может соответствовать или не соответствовать
25 фактической нумерации аминокислотных остатков в фактической последовательности.

В настоящей заявке термин «композиция» в общем случае относится к смеси, содержащей антигенсвязывающий фрагмент, описанный в настоящем документе. Композиция может содержать по меньшей мере один фармацевтически приемлемый компонент, например, вспомогательное вещество, описанное в настоящем документе.

- В настоящей заявке термин «состав» в общем случае относится к продукту, содержащему антигенсвязывающий фрагмент, описанный в настоящем документе, в заданном количестве или соотношении, и к любому продукту, который получают путем прямого или косвенного включения заданного количества антигенсвязывающего фрагмента, описанного в настоящем документе, в комбинацию. Составы, описанные в настоящем документе, могут включать фармацевтические составы, т.е. продукт, содержащий антигенсвязывающий фрагмент, описанный в настоящем документе, и вспомогательное вещество и любой продукт, полученный прямо или косвенно в результате объединения, комплексообразования или агрегации любых двух или более компонентов. Состав может находиться в жидкой форме.
- 5
- 10 В настоящей заявке термин «буферный компонент» в общем случае относится к агенту, выполняющему функцию обеспечения буферного эффекта (например, противодействия изменению pH). Например, буферный компонент может корректировать изменения pH из-за добавления и/или высвобождения кислых или основных веществ. Например, буферный компонент может включать слабые кислоты и их основания-конъюгаты, а также слабые
- 15 основания и их кислоты-конъюгаты.
- В настоящей заявке термин «поверхностно-активное вещество» в общем случае относится к агенту, который может защищать белок (например, антигенсвязывающий фрагмент, описанный в настоящем документе) от напряжения, вызванного поверхностью раздела воздух/раствор, или напряжения, вызванного поверхностью раздела раствор/поверхность, с целью уменьшения агрегации белка или минимизации образования частиц в композиции. Поверхностно-активное вещество может содержать как гидрофобные, так и гидрофильные группы. Поверхностно-активное вещество может содержать смесь или комбинацию одного или более поверхностно-активных веществ. Поверхностно-активное вещество может содержать неионогенное поверхностно-активное вещество.
- 20
- 25 В настоящей заявке термин «PD-L1-положительный» в общем случае означает, что доля клеток, экспрессирующих PD-L1, в образце тестируемой ткани, содержащем опухолевые клетки и инфильтрирующие опухоль воспалительные клетки, выше, чем доля клеток, соответствующих уровню, согласно которому образец оценивают как экспрессирующий PD-L1 на поверхности клеток. Например, долю клеток можно определить с помощью

- иммуногистохимии (ИГХ). В настоящей заявке "PD-L1-положительный" может означать, что по меньшей мере приблизительно 0,01%, по меньшей мере приблизительно 0,5%, по меньшей мере приблизительно 1%, по меньшей мере приблизительно 2%, по меньшей мере приблизительно 3%, по меньшей мере приблизительно 4%, по меньшей мере приблизительно 5%, по меньшей мере приблизительно 6%, по меньшей мере приблизительно 7%, по меньшей мере приблизительно 8%, по меньшей мере приблизительно 9%, по меньшей мере приблизительно 10%, по меньшей мере приблизительно 15%, по меньшей мере приблизительно 20%, по меньшей мере приблизительно 25% или по меньшей мере приблизительно 30% всех клеток в образце экспрессируют PD-L1.
- 10 В настоящей заявке термин «опухоль» в общем случае относится к повреждению, вызванному патологическим ростом клеток. Например, опухоль может образовывать отдельную тканевую массу за счет быстрой неконтролируемой пролиферации клеток. Тканевая масса может быть доброкачественной, предраковой или злокачественной. Опухоль может считаться злокачественной, если она обладает структурой и/или функцией, которые позволяют ей
- 15 неограниченно расти и/или атаковать здоровые ткани. Термин "злокачественная опухоль" можно использовать взаимозаменяемо с термином "рак".
- В настоящей заявке термин «злокачественная солидная опухоль» в общем случае относится к любому типу опухоли с определенной морфологией, способной метастазировать.
- В настоящей заявке термин «инфекционное заболевание» в общем случае относится к
- 20 местным тканевым и системным воспалительным реакциям, вызванным проникновением в организм человека патогенных микроорганизмов, например, вирусов, бактерий, грибов, паразитов и т.п., а также специфических токсинов.
- В настоящей заявке термин «приблизительно» в общем случае относится к обычному диапазону ошибок для соответствующего значения. В настоящем документе ссылка на
- 25 «приблизительное» значение или параметр включает (и описывает) схемы для этого значения или самого параметра. При наличии сомнений или отсутствии приемлемого общепринятого значения для диапазона ошибок для конкретного значения или параметра в данной области техники, «приблизительно» означает $\pm 5\%$ от этого значения или параметра.

Подробное описание изобретения

В одном аспекте настоящего изобретения предложена композиция, которая может содержать антигенсвязывающий фрагмент и вспомогательное вещество, причем указанное антигенсвязывающее вещество может содержать одиночный переменный домен иммуноглобулина, способный специфично связываться с PD-L1, причем указанный одиночный переменный домен иммуноглобулина может содержать аминокислотную последовательность, представленную в любой из SEQ ID NO: 1-6, а указанное вспомогательное вещество выбрано из одного или более веществ из группы, состоящей из: пролина, маннита, сахарозы, глицина и гидрохлорида L-аргинина.

10 Антигенсвязывающий фрагмент

В настоящей заявке антигенсвязывающий фрагмент может специфично связываться с PD-L1. Например, PD-L1 может представлять собой PD-L1 человека.

В настоящей заявке антигенсвязывающий фрагмент может содержать Fc-область иммуноглобулина. Например, антигенсвязывающий фрагмент может состоять из аминокислотной последовательности, соответствующей формуле A-L-B, где A представляет собой одиночный переменный домен иммуноглобулина, L представляет собой аминокислотный линкер или отсутствует, а B представляет собой Fc-область иммуноглобулина человека.

Например, N-конец Fc-области иммуноглобулина может быть непосредственно или опосредованно присоединен к C-концу одиночного переменного домена иммуноглобулина.

Например, N-конец Fc-области иммуноглобулина может быть присоединен к C-концу одиночного переменного домена иммуноглобулина с помощью линкера.

В настоящей заявке одиночный переменный домен иммуноглобулина может содержать участок CDR1-3, определяющий комплементарность по отношению к антигену. Например, CDR1 может содержать аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 45 или 48. Например, CDR2 может содержать аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 46. Например, CDR3 может содержать аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 47. Например, CDR1 может содержать аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 45; CDR2 может

содержать аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 46; а CDR3 может содержать аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 47. Например, CDR1 может содержать аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 48; CDR2 может содержать аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 46; а CDR3 может содержать аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 47.

В настоящей заявке длина линкера может составлять от приблизительно 1 до приблизительно 20 аминокислотных остатков. Например, линкер может не обладать вторичной структурой или структурой более высокого порядка. Например, линкер может представлять собой гибкий линкер. Например, линкер может представлять собой GGGGS, GS или GAP. Например, линкер может содержать аминокислотную последовательность, представленную в любой из SEQ ID NO: 42 - 44.

Например, Fc-область иммуноглобулина может содержать Fc-область, полученную из иммуноглобулина, выбранного из группы, состоящей из IgG1, IgG2, IgG3 и IgG4. Константная область IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4 человека может обладать аминокислотными последовательностями, показанными в записях P01857, P01859, P01860 и P01861, соответственно, в базе данных белков на сайте www.uniprot.org.

Например, Fc-область иммуноглобулина может быть получена из иммуноглобулина человека. Например, Fc-область иммуноглобулина может быть получена из IgG человека. Например, Fc-область иммуноглобулина может быть получена из IgG1 человека.

В настоящей заявке Fc-область иммуноглобулина может не обладать активностью ADCC; и/или Fc-область иммуноглобулина может не обладать активностью CDC. Например, Fc-область иммуноглобулина может потерять активность ADCC и/или активность CDC из-за мутации. Например, Fc-область иммуноглобулина может содержать аминокислотную последовательность, представленную в любой из SEQ ID NO: 7 - 9.

В настоящей заявке антигенсвязывающий фрагмент может содержать гомодимер. Гомодимер может быть образован путем взаимодействия Fc-областей иммуноглобулина.

В настоящей заявке антигенсвязывающий фрагмент может специфично связываться с PD-L1 со значением K_D менее 1×10^{-7} M, менее 1×10^{-8} M, менее 1×10^{-9} M, менее 1×10^{-10} M или менее

1×10^{-11} M.

В настоящей заявке антигенсвязывающий фрагмент может специфично связываться с PD-L1 человека и блокировать взаимодействие PD-L1 и PD-1. В настоящей заявке антигенсвязывающий фрагмент может специфично связываться с PD-L1 человека и
5 блокировать взаимодействие PD-L1 и CD80.

В настоящей заявке антигенсвязывающий фрагмент может ингибировать рост опухоли по меньшей мере на приблизительно 10%, по меньшей мере на приблизительно 20%, по меньшей мере на приблизительно 30%, по меньшей мере на приблизительно 40%, по меньшей мере на приблизительно 50%, по меньшей мере на приблизительно 60%, по меньшей мере на
10 приблизительно 70%, по меньшей мере на приблизительно 80% или более.

В настоящей заявке антигенсвязывающий фрагмент может быть устойчивым к обработке щелочью и/или обработке окислением. Например, антигенсвязывающий фрагмент все еще сохраняет способность специфично связываться с PD-L1 после по меньшей мере 8 часов обработки сильной щелочью (например, бикарбонатом аммония). В качестве другого примера,
15 антигенсвязывающий фрагмент все еще сохраняет способность специфично связываться с PD-L1 после по меньшей мере 2 часов обработки окислителем (например, 1% пероксидом водорода).

В настоящей заявке антигенсвязывающий фрагмент может содержать аминокислотную последовательность, представленную в любой из SEQ ID NO: 14 - 31.

20 В настоящей заявке антигенсвязывающий фрагмент может содержать функциональные варианты антигенсвязывающего фрагмента и его фрагментов, производные антигенсвязывающего фрагмента и его фрагментов, аналоги антигенсвязывающего фрагмента и его фрагментов и/или гомологи антигенсвязывающего фрагмента и его фрагментов.

Функциональный вариант может представлять собой полипептид, обладающий по существу
25 такой же аминокислотной последовательностью, что и природная последовательность, или кодируемый по существу такой же нуклеотидной последовательностью, что и природная последовательность, и способный проявлять одну или более из активностей природной последовательности. Например, функциональный вариант может представлять собой последовательность, полученную путем модификации остатков в аминокислотной

последовательности, представленной в любой из SEQ ID NO: 14 - 31, при сохранении по меньшей мере одной эндогенной функции (например, способности специфично связываться с PD-L1 человека). Например, модификация может включать добавление, делецию, модификацию, замену и/или изменение по меньшей мере одного аминокислотного остатка.

5 Производное может содержать последовательность, полученную путем выполнения любой замены, изменения, модификации, делеции и/или добавления одного (или более) аминокислотного остатка аминокислотной последовательности, представленной в любой из SEQ ID NO: 14 - 31, при сохранении по меньшей мере одной эндогенной функции.

Гомолог может представлять собой аминокислотную последовательность, по меньшей мере на
10 80%, 85%, 90%, 99,1%, 99,2%, 99,3%, 99,4%, 99,5%, 99,6%, 99,7%, 99,8% или 99,9% идентичную аминокислотной последовательности, представленной в любой из SEQ ID NO: 14 - 31. Для определения идентичности последовательностей можно выполнить выравнивание последовательностей различными способами, известными специалистам в данной области техники,

15 например, с использованием программного обеспечения, например, BLAST, BLAST-2, ALIGN, NEEDLE, Megalign (DNASTAR) и т.п. Специалисты в данной области техники могут определить подходящие параметры для выравнивания, включая алгоритмы, необходимые для достижения оптимального выравнивания по всей длине сравниваемых последовательностей.

Аналог может содержать имитатор полипептида, сохраняющий по меньшей мере одну
20 эндогенную функцию антигенсвязывающего фрагмента, описанного в настоящем документе.

Антигенсвязывающий фрагмент, описанный в настоящем документе, может содержать делеции, инсерции или замены аминокислотных остатков, и аминокислотные остатки, подвергшиеся изменениям, не влияющим на фенотип, и приводящим к получению функционально эквивалентного белка. Преднамеренные аминокислотные замены можно
25 вносить на основе сходства полярности, заряда, растворимости, гидрофобности, гидрофильности и/или амфипатической природы остатков при условии сохранения эндогенной функции.

В композиции, описанной в настоящем документе, антигенсвязывающий фрагмент может находиться в концентрации от приблизительно 1 мг/мл до приблизительно 220 мг/мл.

Например, антигенсвязывающий фрагмент может находиться в концентрации от приблизительно 20 мг/мл до приблизительно 220 мг/мл. Например, антигенсвязывающий фрагмент может находиться в концентрации от приблизительно 30 мг/мл до приблизительно 220 мг/мл, от приблизительно 40 мг/мл до приблизительно 220 мг/мл, от приблизительно 50 мг/мл до приблизительно 220 мг/мл, от приблизительно 30 мг/мл до приблизительно 200 мг/мл, от приблизительно 40 мг/мл до приблизительно 200 мг/мл или от приблизительно 50 мг/мл до приблизительно 200 мг/мл. Например, антигенсвязывающий фрагмент может находиться в концентрации от приблизительно 1 мг/мл до приблизительно 300 мг/мл. Например, антигенсвязывающий фрагмент может, в частности, находиться в концентрации приблизительно 5 мг/мл, 10 мг/мл, 20 мг/мл, 30 мг/мл, 40 мг/мл, 50 мг/мл, 60 мг/мл, 70 мг/мл, 80 мг/мл, 90 мг/мл, 100 мг/мл, 110 мг/мл, 120 мг/мл, 130 мг/мл, 140 мг/мл, 150 мг/мл, 160 мг/мл, 170 мг/мл, 180 мг/мл, 190 мг/мл, 200 мг/мл, 210 мг/мл, 220 мг/мл, 230 мг/мл, 240 мг/мл, 250 мг/мл, 260 мг/мл, 270 мг/мл, 280 мг/мл, 290 мг/мл или 300 мг/мл. Например, антигенсвязывающий фрагмент может находиться в концентрации от приблизительно 5 мг/мл до приблизительно 250 мг/мл, от приблизительно 10 мг/мл до приблизительно 290 мг/мл, от приблизительно 20 мг/мл до приблизительно 290 мг/мл, от приблизительно 30 мг/мл до приблизительно 290 мг/мл, от приблизительно 50 мг/мл до приблизительно 290 мг/мл, от приблизительно 60 мг/мл до приблизительно 280 мг/мл, от приблизительно 70 мг/мл до приблизительно 280 мг/мл, от приблизительно 80 мг/мл до приблизительно 280 мг/мл, приблизительно 100 мг/мл до приблизительно 280 мг/мл, от приблизительно 110 мг/мл до приблизительно 250 мг/мл, от приблизительно 130 мг/мл до приблизительно 250 мг/мл, от приблизительно 150 мг/мл до приблизительно 250 мг/мл, от приблизительно 160 мг/мл до приблизительно 250 мг/мл, от приблизительно 170 мг/мл до приблизительно 250 мг/мл, от приблизительно 180 мг/мл до приблизительно 250 мг/мл, от приблизительно 120 мг/мл до приблизительно 220 мг/мл, от приблизительно 140 мг/мл до приблизительно 220 мг/мл, от приблизительно 150 мг/мл до приблизительно 220 мг/мл, от приблизительно 175 мг/мл до приблизительно 220 мг/мл или от приблизительно 190 мг/мл до приблизительно 220 мг/мл. Например, антигенсвязывающий фрагмент может находиться в концентрации от приблизительно 50 мг/мл до приблизительно 200 мг/мл. Например, антигенсвязывающий

фрагмент может находиться в концентрации приблизительно 50 мг/мл; например, антигенсвязывающий фрагмент может находиться в концентрации приблизительно 200 мг/мл.

Вспомогательное вещество и другие ингредиенты

5 Например, вспомогательное вещество может находиться в концентрации от приблизительно 50 мМ до приблизительно 500 мМ. Например, вспомогательное вещество может находиться в концентрации от приблизительно 50 мМ до приблизительно 500 мМ, от приблизительно 100 мМ до приблизительно 500 мМ, от приблизительно 150 мМ до приблизительно 500 мМ, от приблизительно 160 мМ до приблизительно 500 мМ, от приблизительно 165 мМ до приблизительно 500 мМ, от приблизительно 170 мМ до приблизительно 500 мМ, от приблизительно 100 мМ до приблизительно 300 мМ, от приблизительно 150 мМ до приблизительно 300 мМ, от приблизительно 160 мМ до приблизительно 300 мМ, от приблизительно 165 мМ до приблизительно 300 мМ, от приблизительно 170 мМ до приблизительно 300 мМ, от приблизительно 100 мМ до приблизительно 275 мМ, от приблизительно 150 мМ до приблизительно 275 мМ, от приблизительно 160 мМ до приблизительно 275 мМ, от приблизительно 165 мМ до приблизительно 275 мМ, от приблизительно 170 мМ до приблизительно 275 мМ, от приблизительно 100 мМ до приблизительно 220 мМ, от приблизительно 150 мМ до приблизительно 220 мМ, от приблизительно 160 мМ до приблизительно 220 мМ, от приблизительно 165 мМ до приблизительно 220 мМ или от приблизительно 170 мМ до приблизительно 220 мМ.

Например, вспомогательное вещество может содержать пролин, который может находиться в концентрации от приблизительно 50 мМ до приблизительно 500 мМ. Например, пролин может находиться в концентрации от приблизительно 50 мМ до приблизительно 500 мМ, от приблизительно 100 мМ до приблизительно 500 мМ, от приблизительно 150 мМ до приблизительно 500 мМ, от приблизительно 160 мМ до приблизительно 500 мМ, от приблизительно 165 мМ до приблизительно 500 мМ, от приблизительно 170 мМ до приблизительно 500 мМ, от 50 мМ до приблизительно 390 мМ, от приблизительно 100 мМ до приблизительно 390 мМ, от приблизительно 150 мМ до приблизительно 390 мМ, от приблизительно 160 мМ до приблизительно 390 мМ, от приблизительно 165 мМ до

приблизительно 390 мМ, от приблизительно 170 мМ до приблизительно 390 мМ, от
приблизительно 100 мМ до приблизительно 300 мМ, от приблизительно 150 мМ до
приблизительно 300 мМ, от приблизительно 160 мМ до приблизительно 300 мМ, от
приблизительно 165 мМ до приблизительно 300 мМ, от приблизительно 170 мМ до
5 приблизительно 300 мМ, от приблизительно 100 мМ до приблизительно 275 мМ, от
приблизительно 150 мМ до приблизительно 275 мМ, от приблизительно 160 мМ до
приблизительно 275 мМ, от приблизительно 165 мМ до приблизительно 275 мМ, от
приблизительно 170 мМ до приблизительно 275 мМ, от приблизительно 100 мМ до
приблизительно 250 мМ, от приблизительно 150 мМ до приблизительно 250 мМ, от
10 приблизительно 160 мМ до приблизительно 250 мМ, от приблизительно 165 мМ до
приблизительно 250 мМ, от приблизительно 170 мМ до приблизительно 250 мМ, от
приблизительно 100 мМ до приблизительно 220 мМ, от приблизительно 150 мМ до
приблизительно 220 мМ, от приблизительно 160 мМ до приблизительно 220 мМ, от
приблизительно 165 мМ до приблизительно 220 мМ или от приблизительно 170 мМ до
15 приблизительно 220 мМ. Например, вспомогательное вещество может содержать пролин,
который может находиться в концентрации от приблизительно 165 мМ до приблизительно 275
мМ. Например, вспомогательное вещество может содержать пролин, который может
находиться в концентрации от приблизительно 150 мМ до приблизительно 250 мМ. Например,
вспомогательное вещество может содержать пролин, концентрация которого может составлять
20 приблизительно 220 мМ. Например, вспомогательное вещество может содержать L-пролин,
который может находиться в концентрации от приблизительно 50 мМ до приблизительно 500
мМ. Например, L-пролин может находиться в концентрации от приблизительно 50 мМ до
приблизительно 500 мМ, от приблизительно 100 мМ до приблизительно 500 мМ, от
приблизительно 150 мМ до приблизительно 500 мМ, от приблизительно 160 мМ до
25 приблизительно 500 мМ, от приблизительно 165 мМ до приблизительно 500 мМ, от
приблизительно 170 мМ до приблизительно 500 мМ, от 50 мМ до приблизительно 390 мМ, от
приблизительно 100 мМ до приблизительно 390 мМ, от приблизительно 150 мМ до
приблизительно 390 мМ, от приблизительно 160 мМ до приблизительно 390 мМ, от
приблизительно 165 мМ до приблизительно 390 мМ, от приблизительно 170 мМ до

приблизительно 390 мМ, от приблизительно 100 мМ до приблизительно 300 мМ, от
приблизительно 150 мМ до приблизительно 300 мМ, от приблизительно 160 мМ до
приблизительно 300 мМ, от приблизительно 165 мМ до приблизительно 300 мМ, от
приблизительно 170 мМ до приблизительно 300 мМ, от приблизительно 100 мМ до
5 приблизительно 275 мМ, от приблизительно 150 мМ до приблизительно 275 мМ, от
приблизительно 160 мМ до приблизительно 275 мМ, от приблизительно 165 мМ до
приблизительно 275 мМ, от приблизительно 170 мМ до приблизительно 275 мМ, от
приблизительно 100 мМ до приблизительно 250 мМ, от приблизительно 150 мМ до
приблизительно 250 мМ, от приблизительно 160 мМ до приблизительно 250 мМ, от
10 приблизительно 165 мМ до приблизительно 250 мМ, от приблизительно 170 мМ до
приблизительно 250 мМ, от приблизительно 100 мМ до приблизительно 220 мМ, от
приблизительно 150 мМ до приблизительно 220 мМ, от приблизительно 160 мМ до
приблизительно 220 мМ, от приблизительно 165 мМ до приблизительно 220 мМ или от
приблизительно 170 мМ до приблизительно 220 мМ. Например, вспомогательное вещество
15 может содержать L-пролин, который может находиться в концентрации от приблизительно 165
мМ до приблизительно 275 мМ. Например, вспомогательное вещество может содержать L-
пролин, который может находиться в концентрации от приблизительно 150 мМ до
приблизительно 250 мМ. Например, вспомогательное вещество может содержать L-пролин,
концентрация которого может составлять приблизительно 220 мМ.

20 Например, вспомогательное вещество может содержать маннит, который может находиться в
концентрации от приблизительно 50 мМ до приблизительно 500 мМ. Например, маннит может
находиться в концентрации от приблизительно 50 мМ до приблизительно 500 мМ, от
приблизительно 100 мМ до приблизительно 500 мМ, от приблизительно 150 мМ до
приблизительно 500 мМ, от приблизительно 160 мМ до приблизительно 500 мМ, от
25 приблизительно 165 мМ до приблизительно 500 мМ, от приблизительно 170 мМ до
приблизительно 500 мМ, от 50 мМ до приблизительно 390 мМ, от приблизительно 100 мМ до
приблизительно 390 мМ, от приблизительно 150 мМ до приблизительно 390 мМ, от
приблизительно 160 мМ до приблизительно 390 мМ, от приблизительно 165 мМ до
приблизительно 390 мМ, от приблизительно 170 мМ до приблизительно 390 мМ, от

- приблизительно 100 мМ до приблизительно 300 мМ, от приблизительно 150 мМ до приблизительно 300 мМ, от приблизительно 160 мМ до приблизительно 300 мМ, от приблизительно 165 мМ до приблизительно 300 мМ, от приблизительно 170 мМ до приблизительно 300 мМ, от приблизительно 100 мМ до приблизительно 275 мМ, от
- 5 приблизительно 150 мМ до приблизительно 275 мМ, от приблизительно 160 мМ до приблизительно 275 мМ, от приблизительно 165 мМ до приблизительно 275 мМ, от приблизительно 170 мМ до приблизительно 275 мМ, от приблизительно 100 мМ до приблизительно 250 мМ, от приблизительно 150 мМ до приблизительно 250 мМ, от
- 10 приблизительно 160 мМ до приблизительно 250 мМ, от приблизительно 165 мМ до приблизительно 250 мМ, от приблизительно 170 мМ до приблизительно 250 мМ, от приблизительно 100 мМ до приблизительно 220 мМ, от приблизительно 150 мМ до приблизительно 220 мМ, от приблизительно 160 мМ до приблизительно 220 мМ, от
- приблизительно 165 мМ до приблизительно 220 мМ или от приблизительно 170 мМ до приблизительно 220 мМ.
- 15 Например, вспомогательное вещество может содержать сахарозу, которая может находиться в концентрации от приблизительно 50 мМ до приблизительно 500 мМ. Например, сахароза может находиться в концентрации от приблизительно 50 мМ до приблизительно 500 мМ, от
- приблизительно 90 мМ до приблизительно 500 мМ, от приблизительно 100 мМ до приблизительно 500 мМ, от приблизительно 150 мМ до приблизительно 500 мМ, от
- 20 приблизительно 160 мМ до приблизительно 500 мМ, от приблизительно 165 мМ до приблизительно 500 мМ, от приблизительно 170 мМ до приблизительно 500 мМ, от 50 мМ до приблизительно 390 мМ, от приблизительно 100 мМ до приблизительно 390 мМ, от
- приблизительно 150 мМ до приблизительно 390 мМ, от приблизительно 160 мМ до приблизительно 390 мМ, от приблизительно 165 мМ до приблизительно 390 мМ, от
- 25 приблизительно 170 мМ до приблизительно 390 мМ, от приблизительно 100 мМ до приблизительно 300 мМ, от приблизительно 150 мМ до приблизительно 300 мМ, от
- приблизительно 160 мМ до приблизительно 300 мМ, от приблизительно 165 мМ до приблизительно 300 мМ, от приблизительно 170 мМ до приблизительно 300 мМ, от
- приблизительно 100 мМ до приблизительно 275 мМ, от приблизительно 150 мМ до

приблизительно 275 мМ, от приблизительно 160 мМ до приблизительно 275 мМ, от
приблизительно 165 мМ до приблизительно 275 мМ, от приблизительно 170 мМ до
приблизительно 275 мМ, от приблизительно 100 мМ до приблизительно 250 мМ, от
приблизительно 150 мМ до приблизительно 250 мМ, от приблизительно 160 мМ до
5 приблизительно 250 мМ, от приблизительно 165 мМ до приблизительно 250 мМ, от
приблизительно 170 мМ до приблизительно 250 мМ, от приблизительно 100 мМ до
приблизительно 220 мМ, от приблизительно 150 мМ до приблизительно 220 мМ, от
приблизительно 160 мМ до приблизительно 220 мМ, от приблизительно 165 мМ до
приблизительно 220 мМ, от приблизительно 170 мМ до приблизительно 220 мМ, от
10 приблизительно 30 мМ до приблизительно 300 мМ, от приблизительно 40 мМ до
приблизительно 300 мМ, от приблизительно 50 мМ до 300 мМ, от приблизительно 60 мМ до
300 мМ, от приблизительно 80 мМ до 300 мМ, от приблизительно 30 мМ до приблизительно
275 мМ, от приблизительно 40 мМ до приблизительно 275 мМ, от приблизительно 50 мМ до
приблизительно 275 мМ, от приблизительно 30 мМ до приблизительно 250 мМ, от
15 приблизительно 40 мМ до приблизительно 250 мМ, от приблизительно 50 мМ до
приблизительно 250 мМ, от приблизительно 30 мМ до приблизительно 220 мМ, от
приблизительно 40 мМ до приблизительно 220 мМ или от приблизительно 50 мМ до
приблизительно 220 мМ.

Например, вспомогательное вещество может содержать глицин, который может находиться в
20 концентрации от приблизительно 50 мМ до приблизительно 500 мМ. Например, глицин может
находиться в концентрации от приблизительно 50 мМ до приблизительно 500 мМ, от
приблизительно 100 мМ до приблизительно 500 мМ, от приблизительно 150 мМ до
приблизительно 500 мМ, от приблизительно 160 мМ до приблизительно 500 мМ, от
приблизительно 165 мМ до приблизительно 500 мМ, от приблизительно 170 мМ до
25 приблизительно 500 мМ, от 50 мМ до приблизительно 390 мМ, от приблизительно 100 мМ до
приблизительно 390 мМ, от приблизительно 150 мМ до приблизительно 390 мМ, от
приблизительно 160 мМ до приблизительно 390 мМ, от приблизительно 165 мМ до
приблизительно 390 мМ, от приблизительно 170 мМ до приблизительно 390 мМ, от
приблизительно 100 мМ до приблизительно 300 мМ, от приблизительно 150 мМ до

приблизительно 300 мМ, от приблизительно 160 мМ до приблизительно 300 мМ, от
приблизительно 165 мМ до приблизительно 300 мМ, от приблизительно 170 мМ до
приблизительно 300 мМ, от приблизительно 100 мМ до приблизительно 275 мМ, от
приблизительно 150 мМ до приблизительно 275 мМ, от приблизительно 160 мМ до
5 приблизительно 275 мМ, от приблизительно 165 мМ до приблизительно 275 мМ, от
приблизительно 170 мМ до приблизительно 275 мМ, от приблизительно 100 мМ до
приблизительно 250 мМ, от приблизительно 150 мМ до приблизительно 250 мМ, от
приблизительно 160 мМ до приблизительно 250 мМ, от приблизительно 165 мМ до
приблизительно 250 мМ, от приблизительно 170 мМ до приблизительно 250 мМ, от
10 приблизительно 100 мМ до приблизительно 220 мМ, от приблизительно 150 мМ до
приблизительно 220 мМ, от приблизительно 160 мМ до приблизительно 220 мМ, от
приблизительно 165 мМ до приблизительно 220 мМ или от приблизительно 170 мМ до
приблизительно 220 мМ.

Например, вспомогательное вещество может содержать гидрохлорид L-аргинина, который
15 может находиться в концентрации от приблизительно 50 мМ до приблизительно 500 мМ.

Например, гидрохлорид L-аргинина может находиться в концентрации от приблизительно 50
мМ до приблизительно 500 мМ, от приблизительно 100 мМ до приблизительно 500 мМ, от
приблизительно 150 мМ до приблизительно 500 мМ, от приблизительно 160 мМ до
приблизительно 500 мМ, от приблизительно 165 мМ до приблизительно 500 мМ, от
20 приблизительно 170 мМ до приблизительно 500 мМ, от 50 мМ до приблизительно 390 мМ, от
приблизительно 100 мМ до приблизительно 390 мМ, от приблизительно 150 мМ до
приблизительно 390 мМ, от приблизительно 160 мМ до приблизительно 390 мМ, от
приблизительно 165 мМ до приблизительно 390 мМ, от приблизительно 170 мМ до
приблизительно 390 мМ, от приблизительно 100 мМ до приблизительно 300 мМ, от
25 приблизительно 150 мМ до приблизительно 300 мМ, от приблизительно 160 мМ до
приблизительно 300 мМ, от приблизительно 165 мМ до приблизительно 300 мМ, от
приблизительно 170 мМ до приблизительно 300 мМ, от приблизительно 100 мМ до
приблизительно 275 мМ, от приблизительно 150 мМ до приблизительно 275 мМ, от
приблизительно 160 мМ до приблизительно 275 мМ, от приблизительно 165 мМ до

приблизительно 275 мМ, от приблизительно 170 мМ до приблизительно 275 мМ, от
приблизительно 100 мМ до приблизительно 250 мМ, от приблизительно 150 мМ до
приблизительно 250 мМ, от приблизительно 160 мМ до приблизительно 250 мМ, от
приблизительно 165 мМ до приблизительно 250 мМ, от приблизительно 170 мМ до
5 приблизительно 250 мМ, от приблизительно 100 мМ до приблизительно 220 мМ, от
приблизительно 150 мМ до приблизительно 220 мМ, от приблизительно 160 мМ до
приблизительно 220 мМ, от приблизительно 165 мМ до приблизительно 220 мМ или от
приблизительно 170 мМ до приблизительно 220 мМ.

Например, вспомогательное вещество может содержать сорбит, который может находиться в
10 концентрации от приблизительно 50 мМ до приблизительно 500 мМ. Например, сорбит может
находиться в концентрации от приблизительно 100 мМ до приблизительно 500 мМ, от
приблизительно 130 мМ до приблизительно 500 мМ, от приблизительно 150 мМ до
приблизительно 500 мМ, от приблизительно 200 мМ до приблизительно 500 мМ, от
приблизительно 80 мМ до приблизительно 400 мМ, от приблизительно 100 мМ до
15 приблизительно 400 мМ, от приблизительно 150 мМ до приблизительно 400 мМ, от
приблизительно 180 мМ до приблизительно 400 мМ, от приблизительно 100 мМ до
приблизительно 350 мМ, от приблизительно 130 мМ до приблизительно 350 мМ, от
приблизительно 150 мМ до приблизительно 350 мМ, от приблизительно 170 мМ до
приблизительно 350 мМ, от приблизительно 190 мМ до приблизительно 350 мМ, от
20 приблизительно 75 мМ до приблизительно 300 мМ, от приблизительно 100 мМ до
приблизительно 300 мМ, от приблизительно 120 мМ до приблизительно 300 мМ, от
приблизительно 150 мМ до приблизительно 300 мМ, от приблизительно 170 мМ до
приблизительно 300 мМ, от приблизительно 180 мМ до приблизительно 300 мМ, от
приблизительно 200 мМ до приблизительно 300 мМ, от приблизительно 100 мМ до
25 приблизительно 275 мМ, от приблизительно 120 мМ до приблизительно 275 мМ, от
приблизительно 150 мМ до приблизительно 275 мМ от приблизительно 180 мМ до
приблизительно 275 мМ, от приблизительно 100 мМ до приблизительно 250 мМ, от
приблизительно 130 мМ до приблизительно 250 мМ, от приблизительно 150 мМ до
приблизительно 250 мМ, от приблизительно 160 мМ до приблизительно 250 мМ, от

приблизительно 170 мМ до приблизительно 250 мМ, от приблизительно 180 мМ до
приблизительно 250 мМ, от приблизительно 100 мМ до приблизительно 220 мМ, от
приблизительно 120 мМ до приблизительно 220 мМ, от приблизительно 140 мМ до
приблизительно 220 мМ, от приблизительно 160 мМ до приблизительно 220 мМ или от
5 приблизительно 180 мМ до приблизительно 220 мМ.

Например, вспомогательное вещество может содержать глицерин, который может находиться
в концентрации от приблизительно 50 мМ до приблизительно 500 мМ. Например, сорбит
может находиться в концентрации от приблизительно 100 мМ до приблизительно 500 мМ, от
приблизительно 130 мМ до приблизительно 500 мМ, от приблизительно 150 мМ до
10 приблизительно 500 мМ, от приблизительно 200 мМ до приблизительно 500 мМ, от
приблизительно 80 мМ до приблизительно 400 мМ, от приблизительно 100 мМ до
приблизительно 400 мМ, от приблизительно 150 мМ до приблизительно 400 мМ, от
приблизительно 180 мМ до приблизительно 400 мМ, от приблизительно 100 мМ до
приблизительно 350 мМ, от приблизительно 130 мМ до приблизительно 350 мМ, от
15 приблизительно 150 мМ до приблизительно 350 мМ, от приблизительно 170 мМ до
приблизительно 350 мМ, от приблизительно 190 мМ до приблизительно 350 мМ, от
приблизительно 75 мМ до приблизительно 300 мМ, от приблизительно 100 мМ до
приблизительно 300 мМ, от приблизительно 120 мМ до приблизительно 300 мМ, от
приблизительно 150 мМ до приблизительно 300 мМ, от приблизительно 170 мМ до
20 приблизительно 300 мМ, от приблизительно 180 мМ до приблизительно 300 мМ, от
приблизительно 200 мМ до приблизительно 300 мМ, от приблизительно 100 мМ до
приблизительно 275 мМ, от приблизительно 120 мМ до приблизительно 275 мМ, от
приблизительно 150 мМ до приблизительно 275 мМ от приблизительно 180 мМ до
приблизительно 275 мМ, от приблизительно 100 мМ до приблизительно 250 мМ, от
25 приблизительно 130 мМ до приблизительно 250 мМ, от приблизительно 150 мМ до
приблизительно 250 мМ, от приблизительно 160 мМ до приблизительно 250 мМ, от
приблизительно 170 мМ до приблизительно 250 мМ, от приблизительно 180 мМ до
приблизительно 250 мМ, от приблизительно 100 мМ до приблизительно 220 мМ, от
приблизительно 120 мМ до приблизительно 220 мМ, от приблизительно 140 мМ до

приблизительно 220 мМ, от приблизительно 160 мМ до приблизительно 220 мМ или от приблизительно 180 мМ до приблизительно 220 мМ.

В настоящей заявке вспомогательное вещество может содержать стабилизатор. Стабилизатор может представлять собой компонент, который помогает поддерживать структурную целостность композиции. Например, стабилизатор может способствовать поддержанию структурной целостности композиции во время замораживания, лиофилизации и/или хранения. Например, стабилизатор может действовать как осмотический агент, который ослабляет денатурацию белков (например, антигенсвязывающего фрагмента, описанного в настоящем документе).

10 Вспомогательное вещество, описанное в настоящем документе, может дополнительно содержать антиоксидант, который может быть выбран из одного или более соединений из группы, состоящей из метионина, фенола, крезола, аскорбиновой кислоты, глутатиона, тиосульфата натрия, лимонной кислоты и никотинамида. Например, вспомогательное вещество, описанное в настоящем документе, может дополнительно содержать L-метионин в

15 концентрации от приблизительно 0,1 мМ до приблизительно 100 мМ, от приблизительно 0,5 мМ до приблизительно 100 мМ, от приблизительно 1 мМ до приблизительно 100 мМ, от приблизительно 2 мМ до приблизительно 100 мМ, от приблизительно 5 мМ до приблизительно 100 мМ, от приблизительно 0,2 мМ до приблизительно 50 мМ, от приблизительно 1 мМ до приблизительно 50 мМ, от приблизительно 3 мМ до приблизительно 50 мМ, от

20 приблизительно 4 мМ до приблизительно 50 мМ, от приблизительно 5 мМ до приблизительно 50 мМ, от приблизительно 0,1 мМ до приблизительно 30 мМ, от приблизительно 0,3 мМ до приблизительно 30 мМ, от приблизительно 0,6 мМ до приблизительно 30 мМ, от приблизительно 1 мМ до приблизительно 30 мМ, от приблизительно 2 мМ до приблизительно 30 мМ, от приблизительно 5 мМ до приблизительно 30 мМ, от приблизительно 0,1 мМ до

25 приблизительно 20 мМ, от приблизительно 0,5 мМ до приблизительно 20 мМ, от приблизительно 1 мМ до приблизительно 20 мМ, от приблизительно 2 мМ до приблизительно 20 мМ, от приблизительно 0,1 мМ до приблизительно 10 мМ, от приблизительно 0,2 мМ до приблизительно 10 мМ, от приблизительно 0,5 мМ до приблизительно 10 мМ, от приблизительно 0,8 мМ до приблизительно 10 мМ, от приблизительно 1 мМ до

приблизительно 10 мМ, от приблизительно 1,5 мМ до приблизительно 10 мМ, от
приблизительно 2 мМ до приблизительно 10 мМ, от приблизительно 2,5 мМ до
приблизительно 10 мМ, от приблизительно 3 мМ до приблизительно 10 мМ, от
приблизительно 4 мМ до приблизительно 10 мМ или от приблизительно 5 мМ до
5 приблизительно 10 мМ.

Вспомогательное вещество, описанное в настоящем документе, может дополнительно
содержать хелатирующий агент, который может представлять собой динатрий-ЭДТА в
концентрации от приблизительно 0,1 мМ до приблизительно 10 мМ, от приблизительно 0,5
мМ до приблизительно 10 мМ, от приблизительно 1 мМ до приблизительно 10 мМ, от
10 приблизительно 0,1 мМ до приблизительно 5 мМ, от приблизительно 0,2 мМ до
приблизительно 5 мМ, от приблизительно 0,3 мМ до приблизительно 5 мМ, от приблизительно
0,4 мМ до приблизительно 5 мМ, от приблизительно 0,5 мМ до приблизительно 5 мМ, от
приблизительно 0,1 мМ до приблизительно 3 мМ, от приблизительно 0,5 мМ до
приблизительно 3 мМ, от приблизительно 0,6 мМ до приблизительно 3 мМ, от приблизительно
15 0,7 мМ до приблизительно 3 мМ, от приблизительно 0,8 мМ до приблизительно 3 мМ, от
приблизительно 0,1 мМ до приблизительно 2 мМ, от приблизительно 0,2 мМ до
приблизительно 2 мМ, от приблизительно 0,5 мМ до приблизительно 2 мМ, от приблизительно
0,75 мМ до приблизительно 2 мМ, от приблизительно 0,9 мМ до приблизительно 2 мМ или от
приблизительно 1 мМ до приблизительно 2 мМ.

20 Например, рН композиции может составлять от приблизительно 5,0 до приблизительно 7,5.
Например, рН композиции может составлять от приблизительно 5,9 до приблизительно 6,9.
Например, рН композиции может составлять от приблизительно 5,9 до приблизительно 6,8, от
приблизительно 5,9 до приблизительно 6,7, от приблизительно 5,9 до приблизительно 6,6, от
приблизительно 5,9 до приблизительно 6,5, от приблизительно 5,9 до приблизительно 6,4, от
25 приблизительно 6,0 до приблизительно 6,9, от приблизительно 6,1 до приблизительно 6,9, от
приблизительно 6,2 до приблизительно 6,9, от приблизительно 6,3 до приблизительно 6,9, от
приблизительно 6,4 до приблизительно 6,9, от приблизительно 6,0 до приблизительно 6,5, от
приблизительно 6,1 до приблизительно 6,5, от приблизительно 6,2 до приблизительно 6,5, от
приблизительно 6,3 до приблизительно 6,5 или от приблизительно 6,4 до приблизительно 6,5.

Например, рН композиции может составлять от приблизительно 6,3 до приблизительно 6,5.

Например, рН композиции может составлять приблизительно 6,4.

Например, композиция может содержать буферный компонент, причем буферный компонент выбран из одного или более компонентов из группы, состоящей из: ацетата натрия-уксусной
5 кислоты, гистидина-уксусной кислоты, L-гистидина-гидрохлорида L-гистидина, фосфата натрия и лимонной кислоты-гидроксида натрия.

Например, буферный компонент может находиться в концентрации от приблизительно 5 мМ до приблизительно 50 мМ. Например, буферный компонент может находиться в концентрации от приблизительно 5 мМ до приблизительно 50 мМ, от приблизительно 5 мМ до
10 приблизительно 45 мМ, от приблизительно 5 мМ до приблизительно 40 мМ, от приблизительно 5 мМ до приблизительно 35 мМ, от приблизительно 5 мМ до приблизительно 30 мМ, от приблизительно 5 мМ до приблизительно 25 мМ, от приблизительно 5 мМ до приблизительно 20 мМ, от приблизительно 5 мМ до приблизительно 50 мМ или от приблизительно 5 мМ до приблизительно 30 мМ. Например, буферный компонент может
15 находиться в концентрации от приблизительно 10 мМ до 50 мМ. Например, буферный компонент может находиться в концентрации от приблизительно 10 мМ до приблизительно 50 мМ, от приблизительно 10 мМ до приблизительно 45 мМ, от приблизительно 10 мМ до приблизительно 40 мМ, от приблизительно 10 мМ до приблизительно 35 мМ, от приблизительно 10 мМ до приблизительно 30 мМ, от приблизительно 10 мМ до
20 приблизительно 25 мМ, от приблизительно 10 мМ до приблизительно 20 мМ, от приблизительно 20 мМ до приблизительно 50 мМ или от приблизительно 20 мМ до приблизительно 30 мМ.

Например, буферный компонент может содержать ацетат натрия-уксусную кислоту, которые могут находиться в концентрации от приблизительно 10 мМ до приблизительно 50 мМ.

25 Например, ацетат натрия-уксусная кислота может находиться в концентрации от приблизительно 5 мМ до приблизительно 50 мМ, от приблизительно 5 мМ до приблизительно 45 мМ, от приблизительно 5 мМ до приблизительно 40 мМ, от приблизительно 5 мМ до приблизительно 35 мМ, от приблизительно 5 мМ до приблизительно 30 мМ, от приблизительно 5 мМ до приблизительно 25 мМ, от приблизительно 5 мМ до приблизительно

20 мМ, от приблизительно 10 мМ до приблизительно 50 мМ, от приблизительно 10 мМ до приблизительно 45 мМ, от приблизительно 10 мМ до приблизительно 40 мМ, от приблизительно 10 мМ до приблизительно 35 мМ, от приблизительно 10 мМ до приблизительно 30 мМ, от приблизительно 10 мМ до приблизительно 25 мМ, от 5 приблизительно 10 мМ до приблизительно 20 мМ, от приблизительно 20 мМ до приблизительно 50 мМ или от приблизительно 20 мМ до приблизительно 30 мМ. Например, буферный компонент может содержать ацетат натрия-уксусную кислоту, которые могут находиться в концентрации от приблизительно 5 мМ до приблизительно 35 мМ. Например, буферный компонент может содержать ацетат натрия-уксусную кислоту, которые могут 10 находиться в концентрации от приблизительно 10 мМ до приблизительно 30 мМ. Например, буферный компонент может содержать ацетат натрия-уксусную кислоту, которые могут находиться в концентрации приблизительно 20 мМ.

Например, буферный компонент может содержать L-гистидин-гидрохлорид L-гистидина, которые могут находиться в концентрации от приблизительно 10 мМ до приблизительно 50 15 мМ. Например, L-гистидин-гидрохлорид L-гистидина могут находиться в концентрации от приблизительно 5 мМ до приблизительно 50 мМ, от приблизительно 5 мМ до приблизительно 45 мМ, от приблизительно 5 мМ до приблизительно 40 мМ, от приблизительно 5 мМ до приблизительно 35 мМ, от приблизительно 5 мМ до приблизительно 30 мМ, от приблизительно 5 мМ до приблизительно 25 мМ, от приблизительно 5 мМ до приблизительно 20 мМ, от приблизительно 10 мМ до 50 мМ, от приблизительно 10 мМ до приблизительно 45 20 мМ, от приблизительно 10 мМ до приблизительно 40 мМ, от приблизительно 10 мМ до приблизительно 35 мМ, от приблизительно 10 мМ до приблизительно 30 мМ, от приблизительно 10 мМ до приблизительно 25 мМ, от приблизительно 10 мМ до приблизительно 20 мМ, от приблизительно 20 мМ до приблизительно 50 мМ или от 25 приблизительно 20 мМ до приблизительно 30 мМ. Например, буферный компонент может содержать L-гистидин-гидрохлорид L-гистидина, которые могут находиться в концентрации от приблизительно 5 мМ до приблизительно 35 мМ. Например, буферный компонент может содержать L-гистидин-гидрохлорид L-гистидина, которые могут находиться в концентрации от приблизительно 10 мМ до приблизительно 30 мМ. Например, буферный компонент может

содержать L-гистидин-гидрохлорид L-гистидина, которые могут находиться в концентрации приблизительно 20 мМ.

Например, композиция может содержать поверхностно-активное вещество, причем поверхностно-активное вещество может быть выбрано из одного или более веществ из группы, состоящей из: полисорбата 20, полисорбата 80 и полоксамера 188. В настоящей заявке концентрацию поверхностно-активного вещества выражают в мг/мл или % (мас./об.), и специалисты в данной области техники должны понимать, что возможно преобразование этих двух единиц измерения. Например, 0,02% поверхностно-активного вещества можно преобразовать в 0,2 мг/мл.

10 Например, поверхностно-активное вещество может находиться в концентрации от приблизительно 0 мг/мл до приблизительно 0,8 мг/мл. Например, поверхностно-активное вещество может находиться в концентрации от приблизительно 0,05 мг/мл до приблизительно 0,8 мг/мл. Например, поверхностно-активное вещество может находиться в концентрации от приблизительно 0 мг/мл до приблизительно 0,8 мг/мл, от приблизительно 0,1 мг/мл до приблизительно 0,8 мг/мл, от приблизительно 0,2 мг/мл до приблизительно 0,8 мг/мл, от приблизительно 0,3 мг/мл до приблизительно 0,8 мг/мл, от приблизительно 0,1 мг/мл до приблизительно 0,3 мг/мл, от приблизительно 0,1 мг/мл до приблизительно 0,2 мг/мл, от приблизительно 0,05 мг/мл до приблизительно 0,3 мг/мл, от приблизительно 0 мг/мл до приблизительно 0,4 мг/мл, от приблизительно 0,05 мг/мл до приблизительно 0,4 мг/мл, от приблизительно 0,05 мг/мл до приблизительно 0,2 мг/мл, от приблизительно 0,2 мг/мл до приблизительно 0,4 мг/мл или от приблизительно 0 мг/мл до приблизительно 0,2 мг/мл.

Например, поверхностно-активное вещество может содержать полисорбат 20, который может находиться в концентрации от приблизительно 0 мг/мл до приблизительно 0,8 мг/мл.

Например, полисорбата 20 может находиться в концентрации от приблизительно 0,05 мг/мл до приблизительно 0,8 мг/мл. Например, полисорбат 20 может находиться в концентрации от приблизительно 0 мг/мл до приблизительно 0,8 мг/мл, от приблизительно 0,1 мг/мл до приблизительно 0,8 мг/мл, от приблизительно 0,2 мг/мл до приблизительно 0,8 мг/мл, от приблизительно 0,3 мг/мл до приблизительно 0,8 мг/мл, от приблизительно 0,1 мг/мл до приблизительно 0,3 мг/мл, от приблизительно 0,1 мг/мл до приблизительно 0,2 мг/мл, от

188 может находиться в концентрации от приблизительно 0,05 мг/мл до приблизительно 5 мг/мл, от приблизительно 0,08 мг/мл до приблизительно 5 мг/мл, от приблизительно 0,1 мг/мл до приблизительно 5 мг/мл, от приблизительно 0,2 мг/мл до приблизительно 5 мг/мл, от приблизительно 0,05 мг/мл до приблизительно 3 мг/мл, от приблизительно 0,1 мг/мл до приблизительно 3 мг/мл, от приблизительно 0,15 мг/мл до приблизительно 3 мг/мл, от приблизительно 0,2 мг/мл до приблизительно 3 мг/мл, от приблизительно 0,05 мг/мл до приблизительно 2 мг/мл, от приблизительно 0,075 мг/мл до приблизительно 2 мг/мл, от приблизительно 0,1 мг/мл до приблизительно 2 мг/мл, от приблизительно 0,15 мг/мл до приблизительно 2 мг/мл, от приблизительно 0,2 мг/мл до приблизительно 2 мг/мл, от приблизительно 0,3 мг/мл до приблизительно 2 мг/мл или от приблизительно 0,5 мг/мл до приблизительно 2 мг/мл.

В настоящей заявке композиция может содержать антигенсвязывающий фрагмент, описанный в настоящем документе, и вспомогательное вещество, описанное в настоящем документе, и рН композиции может составлять от приблизительно 5,9 до приблизительно 6,9. Например, композиция может содержать антигенсвязывающий фрагмент, описанный в настоящем документе, вспомогательное вещество, описанное в настоящем документе, и буферный компонент, описанный в настоящем документе, и рН композиции может составлять от приблизительно 5,9 до приблизительно 6,9. Например, композиция может содержать антигенсвязывающий фрагмент, описанный в настоящем документе, вспомогательное вещество, описанное в настоящем документе, буферный компонент, описанный в настоящем документе, и поверхностно-активное вещество, описанное в настоящем документе, и рН композиции может составлять от приблизительно 5,9 до приблизительно 6,9.

В настоящей заявке композиция может содержать антигенсвязывающий фрагмент, описанный в настоящем документе, и пролин, и рН композиции может составлять от приблизительно 5,9 до приблизительно 6,9. Например, композиция может содержать антигенсвязывающий фрагмент, описанный в настоящем документе, пролин и ацетат натрия-уксусную кислоту, и рН композиции может составлять от приблизительно 5,9 до приблизительно 6,9. Например, композиция может содержать антигенсвязывающий фрагмент, описанный в настоящем документе, пролин, ацетат натрия-уксусную кислоту и полисорбат 20, и рН композиции может

составлять от приблизительно 5,9 до приблизительно 6,9. Например, композиция может содержать антигенсвязывающий фрагмент, описанный в настоящем документе, пролин, ацетат натрия-уксусную кислоту и полисорбат 20, и рН композиции может составлять от приблизительно 6,3 до приблизительно 6,5.

5 Например, указанная композиция может содержать: 1) от приблизительно 20 мг/мл до приблизительно 220 мг/мл антигенсвязывающего фрагмента, описанного в настоящем документе; 2) от приблизительно 10 мМ до приблизительно 50 мМ ацетата натрия-уксусной кислоты; 3) от приблизительно 50 мМ до приблизительно 500 мМ пролина; и 4) от приблизительно 0,05 мг/мл до приблизительно 0,8 мг/мл полисорбата 20; и рН композиции
10 может составлять от приблизительно 5,9 до приблизительно 6,9.

Например, композиция может состоять из: 1) от приблизительно 20 мг/мл до приблизительно 220 мг/мл антигенсвязывающего фрагмента, описанного в настоящем документе; 2) от приблизительно 10 мМ до приблизительно 50 мМ ацетата натрия-уксусной кислоты; 3) от приблизительно 50 мМ до приблизительно 500 мМ пролина; и 4) от приблизительно 0,05 мг/мл
15 до приблизительно 0,8 мг/мл полисорбата 20; и рН композиции может составлять от приблизительно 5,9 до приблизительно 6,9.

Например, композиция может содержать: 1) от приблизительно 20 мг/мл до приблизительно 220 мг/мл антигенсвязывающего фрагмента, описанного в настоящем документе; 2) от приблизительно 5 мМ до приблизительно 35 мМ ацетата натрия-уксусной кислоты; 3) от
20 приблизительно 50 мМ до приблизительно 390 мМ пролина; и 4) от приблизительно 0 мг/мл до приблизительно 0,4 мг/мл полисорбата 20; и рН композиции может составлять от приблизительно 5,9 до приблизительно 6,9.

Например, композиция может состоять из: 1) от приблизительно 20 мг/мл до приблизительно 220 мг/мл антигенсвязывающего фрагмента, описанного в настоящем документе; 2) от
25 приблизительно 5 мМ до приблизительно 35 мМ ацетата натрия-уксусной кислоты; 3) от приблизительно 50 мМ до приблизительно 390 мМ пролина; и 4) от приблизительно 0 мг/мл до приблизительно 0,4 мг/мл полисорбата 20; и рН композиции может составлять от приблизительно 5,9 до приблизительно 6,9.

Например, композиция может содержать: 1) от приблизительно 50 мг/мл до приблизительно

200 мг/мл антигенсвязывающего фрагмента, описанного в настоящем документе; 2) от приблизительно 10 мМ до приблизительно 30 мМ ацетата натрия-уксусной кислоты; 3) от приблизительно 150 мМ до приблизительно 250 мМ пролина; и 4) от приблизительно 0,2 мг/мл до приблизительно 0,4 мг/мл полисорбата 20; и рН композиции может составлять от
5 приблизительно 6,3 до приблизительно 6,5.

Например, композиция может состоять из: 1) от приблизительно 50 мг/мл до приблизительно 200 мг/мл антигенсвязывающего фрагмента, описанного в настоящем документе; 2) от приблизительно 10 мМ до приблизительно 30 мМ ацетата натрия-уксусной кислоты; 3) от приблизительно 150 мМ до приблизительно 250 мМ пролина; и 4) от приблизительно 0,2 мг/мл
10 до приблизительно 0,4 мг/мл полисорбата 20; и рН композиции может составлять от приблизительно 6,3 до приблизительно 6,5.

Например, композиция может содержать: 1) приблизительно 200 мг/мл антигенсвязывающего фрагмента, описанного в настоящем документе; 2) приблизительно 20 мМ ацетата натрия-уксусной кислоты; 3) приблизительно 220 мМ пролина; и 4) приблизительно 0,2 мг/мл
15 полисорбата 20; и рН композиции может составлять приблизительно 6,4.

Например, композиция может состоять из: 1) приблизительно 200 мг/мл антигенсвязывающего фрагмента, описанного в настоящем документе; 2) приблизительно 20 мМ ацетата натрия-уксусной кислоты; 3) приблизительно 220 мМ пролина; и 4) приблизительно 0,2 мг/мл
20 полисорбата 20; и рН композиции может составлять приблизительно 6,4.

В настоящей заявке композицию можно использовать для инъекции. В настоящей заявке композицию можно использовать для подкожной инъекции. Например, композицию также можно использовать для подкожной инъекции, внутримышечной инъекции, внутривенной инъекции, парентерального введения или внутривенного вливания.

В настоящей заявке композиция может представлять собой состав. Например, композиция
25 может представлять собой жидкий состав.

В еще одном аспекте настоящего изобретения предложен набор, содержащий композицию, описанную в настоящем документе, и контейнер, в котором находится композиция, описанная в настоящем документе.

Например, контейнер может содержать флакон (например, стеклянный флакон), ампулу,

шприц, шприц-ручку и/или пакет для в/в введения. В настоящей заявке контейнер может быть стерильным. Например, контейнер может содержать стеклянный флакон.

Например, набор может содержать устройство для доставки, которое может вводить композицию, описанную в данном документе. Например, устройство для доставки может
5 содержать флакон, ампулу, шприц, шприц-ручку и/или пакет для в/в введения.

В настоящей заявке объем композиции в контейнере может составлять от приблизительно 0,5 мл до приблизительно 5,0 мл. Например, объем композиции в контейнере может составлять от приблизительно 0,5 мл до приблизительно 1,5 мл. Например, объем композиции может
10 составлять приблизительно 1,5 мл. Например, объем композиции может составлять приблизительно 1,0 мл. В настоящей заявке антигенсвязывающий фрагмент может находиться в контейнере в концентрации приблизительно 200 мг/1,0 мл/флакон или приблизительно 300 мг/1,5 мл/флакон.

В еще одном аспекте настоящего изобретения предложено применение композиции, описанной в настоящем документе, и/или набора, описанного в настоящем документе, для
15 получения лекарственного средства для профилактики, облегчения и/или лечения опухоли.

В настоящей заявке предложено применение композиции, описанной в настоящем документе, и/или набора, описанного в настоящем документе, для профилактики, облегчения и/или
лечения опухоли.

В настоящей заявке предложен способ профилактики, облегчения и/или лечения опухоли,
20 включающий следующий этап: введение нуждающемуся в этом субъекту композиции, описанной в настоящем документе, и/или набора, описанного в настоящем документе.

В настоящей заявке опухоль может включать PD-L1-положительную опухоль. Например, опухоль может включать злокачественную солидную опухоль.

В настоящей заявке опухоль может включать опухоль с микросателлитной нестабильностью
25 (MSI-H)/дефектом репарации ошибок спаривания нуклеотидов (dMMR) (например, солидную опухоль с MSI-H/dMMR во всей опухоли). Например, опухоль может включать рак ободочной и прямой кишки или рак желудка с микросателлитной нестабильностью (MSI-H)/дефектом репарации ошибок спаривания нуклеотидов (dMMR) на поздней стадии. Например, опухоль может включать рак желчных путей, который не подходит для хирургической резекции или

является метастатическим, и/или не подвергавшуюся лечению аденокарциному желудка или желудочно-пищеводного соединения, которая не подходит для резекции или является метастатической.

В еще одном аспекте настоящего изобретения также предложено применение композиции, описанной в настоящем документе, и/или набора, описанного в настоящем документе, для получения лекарственного средства для профилактики, облегчения и/или лечения инфекционного заболевания.

В настоящей заявке предложено применение композиции, описанной в настоящем документе, и/или набора, описанного в настоящем документе, для профилактики, облегчения и/или лечения инфекционного заболевания.

В настоящей заявке предложен способ профилактики, облегчения и/или лечения инфекционного заболевания, включающий следующий этап: введение нуждающемуся в этом субъекту композиции, описанной в настоящем документе, и/или набора, описанного в настоящем документе.

В настоящей заявке инфекционное заболевание включает заболевание, вызванное вирусной инфекцией, бактериальной инфекцией, грибковой инфекцией и/или паразитарной инфекцией.

В настоящей заявке также предложен способ получения композиции, описанной в настоящем документе, и/или набора, описанного в настоящем документе. Способ может включать смешивание в любом порядке любых соответствующих компонентов, необходимых для получения композиции, описанной в настоящем документе. Например, способ может включать получение заранее изготовленной смеси (или заранее смешанного раствора) вспомогательного вещества, буферного компонента и/или поверхностно-активного вещества. Например, указанный способ может включать образование буферной системы. Буферная система может содержать буферный компонент, описанный в настоящей заявке. Способ, описанный в настоящем документе, может включать удаление твердых частиц (например, путем фильтрации).

Безотносительно к теоретическим представлениям, следующие примеры предназначены только для иллюстрирования составов, способов получения, применения и т. д. согласно настоящей заявке, но не для ограничения рамок настоящей заявки.

Примеры

Параметры и способы обнаружения:

- 5 (1) Эндогенная флуоресцентная спектроскопия: используют спектры флуоресценции аминокислот (триптофана, тирозина и фенилаланина) в молекуле белка, способной проявлять эндогенную флуоресценцию в полярных и неполярных средах. Если спектр флуоресценции смещен в красную сторону, т.е. изменяется максимальная длина волны излучения, можно определить консистенцию структур высшего порядка в белке, т.е. взаимную трансформацию структур высшего порядка. Образцы разбавляли до 40 мг/мл и использовали высокопроизводительный спектрометр собственной флуоресценции Optim1000 (Pall).
- 10 Температурный диапазон при анализе составлял 20-95 °С, а интервал при анализе - 1 °С. Тенденцию образцов к агрегированию определяли на основе результатов SLS (статического светорассеяния) при длине волны 473 нм, а температура денатурации представляла собой значение, измеренное при ВСМ (среднем барицентрическом). Оценку выполняли на основе значений T_m (температуры полуденатурации), рассчитанных в соответствии с формулой.
- 15 (2) ЭХ-ВЭЖХ (эксклюзионная хроматография): приведена ссылка на эксклюзионную хроматографию (общие правила 0514, том III китайской фармакопеи 2015 г.) для обнаружения в продукте содержания мономеров, а также полимеров и фрагментов. Хроматографическая колонка представляла собой TOSOH G3000 7,8 × 300 мм, 5 мкм; подвижная фаза представляла собой 20 мМ Na₂HPO₄, 300 мМ NaCl; длина волны обнаружения составляла 280 нм.
- 20 (3) WCX-ВЭЖХ (слабая катионообменная хроматография): приведена ссылка на высокоэффективную жидкостную хроматографию (общие правила 0512, том III китайской фармакопеи 2015 г.) для обнаружения в продукте содержания главного компонента, кислотного компонента и основного компонента. Хроматографическая колонка представляла собой Prorac WCX-10 4 × 250 мм, 10 мкм; подвижная фаза представляла собой 10 мМ Na₂HPO₄, 10 мМ Na₂HPO₄ + 500 мМ NaCl; длина волны обнаружения составляла 280 нм.
- 25 (4) Связывающая и блокирующая активность: приведена ссылка на аналитические методики, описанные в примерах 5.2 и 5.3 WO 2017/020802A1.
- (5) Вязкость: вязкость измеряли в автоматическом режиме с использованием microVISC rheosense - портативного микровязкозиметра (США).

(6) Осмотическое давление: осмотическое давление определяли с использованием способа определения осмолярности.

Приборы: осмометр; реагенты: калибровочный раствор 300 мосм/кг, калибровочный раствор 900 мосм/кг и хлорид натрия

5 Расходные материалы: центрифужные пробирки, беспыльная бумага и т.д.;

Экспериментальные процедуры: 100 мкл образца добавляли в пробирку для образца; следовало убедиться, что в пробирке для образца не образовались пузырьки; пробирку для образца помещали на зонд для обнаружения после протирки зонда пробирки и вторичного зонда беспыльной бумагой; зонд для обнаружения опускали вниз, пробирку для образца

10 помещали в охлаждаемую ловушку и нажимали клавишу «Enter» для начала анализа. Анализируемый образец подвергали параллельному анализу (анализировали 2 раза). Калибровка нулевой точки: в пределах ± 2 ; 300-точечная калибровка, в пределах ± 4 ; и 900-точечная калибровка: в пределах ± 8 .

(7) Чистота согласно КЭ с ДСН: после денатурации (в невозстановленном состоянии) или денатурации и восстановления (в восстановленном состоянии) образец помещали в аппарат для капиллярного электрофореза для электрофоретического анализа и выполняли расчет в соответствии со способом нормировки по площади.

(8) Содержание белка: приведена ссылка на способ б определения содержания белка (общие правила 0731, том III китайской фармакопеи 2015), содержание белка рассчитывали в соответствии со значением оптической плотности белка при длине волны 280 нм и теоретическим коэффициентом экстинкции белка с использованием УФ-микроспектрофотометра Nanodrop 2000.

(9) Измерение мутности: значение оптической плотности образца при 340 нм измеряли на спектрофотометре Agilent 8453.

25 (10) Нерастворимые частицы: количество частиц ≥ 10 мкм и ≥ 25 мкм в образце измеряли на анализаторе нерастворимых микрочастиц AccuSizer 780SIS.

(11) Динамическое светорассеяние (DLS): средний диаметр частиц (Z-средний диаметр) и коэффициент распределения (PDI) измеряли на анализаторе размера частиц типа PUNK.

Получение антигенсвязывающего белка:

Антигенсвязывающий белок содержал одиночный вариабельный домен иммуноглобулина, способный специфично связываться с PD-L1, причем одиночный вариабельный домен иммуноглобулина мог содержать аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 2. Здесь и далее антигенсвязывающий белок называют «моноклональным антителом против PD-L1». Моноклональное антитело против PD-L1 получали способом искусственного синтеза аминокислотных последовательностей. Моноклональное антитело против PD-L1 содержало аминокислотную последовательность, представленную в любой из SEQ ID NO: 14 - 31, в частности, аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 21.

10 Пролин, упомянутый в разделе "Примеры", включает L-пролин.

Пример 1

Получали следующие формулы составов в соответствии с таблицей 1:

Таблица 1. Различные композиции формул составов в скрининговом эксперименте

Формула	Содержание моноклонального антитела против PD-L1 (мг/мл)	Буферная система	Вспомогательное вещество	Поверхностно-активное вещество	pH
1	200±20	20 мМ ацетата натрия-уксусной кислоты	250 мМ глицина	0,02% полисорбата 20	6,5
2	200±20	20 мМ ацетата натрия-уксусной кислоты	250 мМ глицина	0,02% полисорбата 20	7,0
3	200±20	20 мМ ацетата натрия-уксусной кислоты	250 мМ L-пролина	0,02% полисорбата 20	6,5
4	200±20	20 мМ ацетата натрия-уксусной кислоты	250 мМ L-пролина	0,02% полисорбата 20	7,0
5	200±20	20 мМ фосфата натрия	250 мМ глицина	0,02% полисорбата 20	6,5
6	200±20	20 мМ фосфата натрия	250 мМ глицина	0,02% полисорбата 20	7,0
7	200±20	20 мМ фосфата натрия	250 мМ L-пролина	0,02% полисорбата 20	6,5
8	200±20	20 мМ фосфата натрия	250 мМ L-пролина	0,02% полисорбата 20	7,0
9	200±20	20 мМ фосфата натрия	250 мМ глицина	0,02% полисорбата 20	6,8

Формула	Содержание моноклонального антитела против PD-L1 (мг/мл)	Буферная система	Вспомогательное вещество	Поверхностно-активное вещество	pH
10	200±20	20 мМ L-гистидина-уксусной кислоты	250 мМ глицина	0,02% полисорбата 20	7,0
11	200±20	--	250 мМ глицина	0,02% полисорбата 20	7,0
12	200±20	--	250 мМ L-пролина	0,02% полисорбата 20	7,0
13	200±20	20 мМ фосфата натрия	150 мМ гидрохлорида L-аргинина	0,02% полисорбата 20	7,0
14	200±20	20 мМ фосфата натрия	90 мг/мл сахарозы	0,02% полисорбата 20	7,0
15	200±20	20 мМ фосфата натрия	150 мМ гидрохлорида L-аргинина	0,2% полоксамера 188	7,0
16	50±2	20 мМ фосфата натрия	90 мг/мл сахарозы	0,02% полисорбата 20	7,0
17	50±2	20 мМ фосфата натрия	150 мМ гидрохлорида L-аргинина	0,02% полисорбата 20	7,0
18	50±2	20 мМ фосфата натрия	250 мМ глицина	0,02% полисорбата 20	7,0
19	50±2	20 мМ фосфата натрия	50 мг/мл маннита	0,02% полисорбата 20	7,0

Примечание: -- не добавлено

Формулы составов в таблице 1 подвергали скринингу и обнаруживали в соответствии с таблицей 2.

Таблица 2. Обнаруживаемые параметры для скрининга формул составов

Обнаруживаемые параметры	Продолжительность исследования (суток) (температура: 40±2 °С)		
	0	14	28
Спектры эндогенной флуоресценции	√	--	--
ЭХ-ВЭЖХ	√	√	√
WSX-ВЭЖХ	√	√	√
Вязкость	√	--	--
Активность	√	--	√
Осмотическое давление	√	--	--

1) Обнаружение спектров эндогенной флуоресценции

Значения T_m и результаты обнаружения тенденции к агрегированию, соответствующие формулам 1-19, показаны на ФИГ. 1 и ФИГ. 2, соответственно.

5 Результаты на ФИГ. 1 показывают, что формулы 1-4 и 12 были более структурно стабильными; результаты на ФИГ. 2 показывают, что формулы 1-4 и 10 были менее склонны к образованию агрегатов. Можно видеть, что при этом варианте обнаружения стабильность формул 1-4 была очень хорошей, т.е. применение ацетата натрия-уксусной кислоты в качестве буферной системы коррелировала с дальнейшим улучшением стабильности.

10 Сравнивая результаты формул 1-2 и 3-4 по отдельности, можно видеть, что более низкий рН коррелировал с дальнейшим улучшением стабильности.

2) Определение содержания основного пика посредством ЭХ-ВЭЖХ

Результаты содержания основного пика и результаты содержания агрегатов, соответствующие формулам 1-19 и обнаруженные с помощью ЭХ-ВЭЖХ, показаны на ФИГ. 3 и ФИГ. 4, соответственно.

15 Результаты показывают, что в условиях 28 суток высокой температуры чистота моноклонального антитела против PD-L1 во всех формулах, за исключением формулы 11, превышала 97%, что демонстрирует необходимость буферной системы.

Сравнивая результаты формул 1, 3, 5 и 7 и формул 2, 4, 6 и 8, соответственно, можно видеть, что более низкий рН коррелировал с дальнейшим улучшением стабильности формулы.

20 При сравнении стабильности формул 1 и 3 (рН 6,5, ацетат натрия-уксусная кислота в качестве буферной системы) и формул 5 и 7 (рН 6,5, фосфат натрия в качестве буферной системы) по отдельности обнаружено, что присутствие L-пролина коррелировало с дальнейшим улучшением стабильности.

25 При сравнении результатов для формул 6 и 8 и формул 13 и 14 по отдельности обнаружено, что включение L-аргинина или включение L-пролина коррелировало с дальнейшим улучшением стабильности.

При сравнении формул 2, 6 и 10 обнаружено, что применение ацетата натрия-уксусной кислоты в качестве буферной системы коррелировало с дальнейшим улучшением стабильности.

При сравнении результатов для формул 14 и 16, формул 13 и 17 и формул 6 и 18 по отдельности обнаружено, что стабильность формул, по-видимому, не зависела от того, составляло ли содержание моноклонального антитела против PD-L1 50 мг/мл или 200 мг/мл.

3) WСХ-ВЭЖХ-обнаружение содержания кислых компонентов

5 Результаты для содержания кислого компонента, обнаруженного с помощью WСХ-ВЭЖХ, показаны на фиг. 5, на которой может быть продемонстрирована тенденцию к изменению кислотного компонента (который может включать компоненты, полученные в результате разложения моноклонального антитела против PD-L1 в условиях высокой температуры) в формулах.

10 Сравнивая результаты формул 1, 3, 5 и 7 и формул 2, 4, 6 и 8, соответственно, можно видеть, что более низкий рН коррелировал с дальнейшим восстановлением кислого компонента формул.

При сравнении кислых компонентов формулы 1 и формулы 5, формулы 3 и формулы 7 и формул 2, 6 и 10 по отдельности обнаружено, что применение ацетата натрия-уксусной

15 кислоты в качестве буферной системы коррелировало с дальнейшим восстановлением кислых компонентов формул.

При сравнении кислых компонентов формул 6, 8, 13 и 14 обнаружено, что включение L-пролина коррелировало с дальнейшим восстановлением кислых компонентов формул.

20 Сравнивая результаты формул 14 и 16, формул 13 и 17 и формул 6 и 18 по отдельности, можно видеть, что содержание кислого компонента в формулах, по-видимому, не зависело от того, составляло ли содержание моноклонального антитела против PD-L1 50 мг/мл или 200 мг/мл.

4) Определение вязкости

Результаты определения вязкости показаны на ФИГ. 6. За исключением формулы 8, вязкость других формул соответствовала требованиям для подкожной инъекции по вязкости.

25 Сравнивая результаты формул 14 и 16 и формул 13 и 17 по отдельности, можно видеть, что при содержании моноклонального антитела против PD-L1 200 мг/мл вязкость была увеличена по сравнению с ситуацией, когда содержание моноклонального антитела против PD-L1 составляло 50 мг/мл, однако это не влияло на введение путем подкожной инъекции.

5) Обнаружение активности

Формулу 1 и формулу 3 выбрали для анализа активности при высокотемпературной обработке. Результаты анализа связывающей активности и блокирующей активности обеих формул показаны на ФИГ. 7, ФИГ. 8 и в таблице 3. А-Д на ФИГ. 7-8 представляют собой результаты в 0 сутки для формулы 1, 0 сутки для формулы 3, 28 суток для формулы 1 и 28 суток для формулы 3, соответственно. Результаты показывают, что после 28 суток высокотемпературной обработки значимые различия в активности формулы 1 и формулы 3 отсутствовали, и активность каждой из них значимо не отличалась от соответствующей активности в 0 сутки.

Таблица 3. Связывающая активность и блокирующая активность формулы 1 и формулы 3

	Формула 1		Формула 3	
	0 сутки	28 суток	0 сутки	28 суток
Связывающая активность, ЕС50	39,25	42,57	39,98	39,35
Блокирующая активность, ЕС50	401,8	389,8	388,9	388,3

Пример 2

10 На основании скрининга формул, описанного в примере 1, дополнительно проверили влияние факторов на эффективность формул; формулы составов для исследования приведены в таблице 4.

Таблица 4. Различные композиции состава при оптимизации формулы

Формула	Продукты для проверки	Содержание моноклонального антитела против PD-L1	Буфер	Стабилизатор	Поверхностно-активное вещество	pH
19 А	Тип поверхностно-активного вещества	200 мг/мл	20 мМ ацетата натрия-уксусной кислоты	220 мМ L-пролина	0,02% полисорбата 20	6,4
20 А					0,02% полисорбат-80	
21 А					0,02% полоксамер Р188	
22 А	0,02% полисорбата 20					
23 А			Тип буфера		20 мМ L-гистидина-уксусной кислоты	
			20 мМ L-гистидина-гидрохлорида L-гистидина			

Формула	Продукты для проверки	Содержание моноклонального антитела против PD-L1	Буфер	Стабилизатор	Поверхностно-активное вещество	pH			
24 А			20 мМ фосфата натрия						
25 А			20 мМ лимонной кислоты-гидроксида натрия						
26 А	Тип стабилизатора		20 мМ ацетата натрия-уксусной кислоты	90 мг/мл сахарозы					
27 А				250 мМ глицина					
28 А				150 мМ гидрохлорида L-аргинина					
29 А				150 мМ хлорида натрия					
30 А	Моноклональное антитело против PD-L1			Н/Д			Н/Д	Н/Д	Н/Д
31 А	Моноклональное антитело против PD-L1 + стабилизатор			Н/Д			220 мМ L-пролина	Н/Д	Н/Д
32 А	Моноклональное антитело против PD-L1 + буфер + стабилизатор			20 мМ ацетата натрия-уксусной кислоты			220 мМ L-пролина	Н/Д	6,4
33 А	Содержание моноклонального антитела		20 мг/мл	20 мМ ацетата натрия-уксусной кислоты			220 мМ L-пролина	0,02% полисорбата 20	6,4
34 А	антитела против PD-L1	220 мг/мл	20 мМ ацетата натрия-уксусной кислоты	220 мМ L-пролина	0,02% полисорбата 20	6,4			

Примечание: Н/Д означает "не добавляли"

После того, как составы подвергали ускоренному старению в течение 14 суток и 28 суток при высокой температуре (40 ± 2 °C), оценивали чистоту моноклонального антитела против PD-L1, обнаруженного с помощью ЭХ-ВЭЖХ, а также изменение кислых и основных компонентов, обнаруженных с помощью ВСХ-ВЭЖХ, и определяли вязкость образцов в 0 сутки. Другие

дополнительные параметры экспериментального исследования и оценки композиции состава показаны в таблице 5.

Таблица 5. Обнаруживаемые параметры для оптимизации формул составов

Обнаруживаемые параметры	Продолжительность исследования (суток) (температура: 40±2 °С)		
	0	14	28
ЭХ-ВЭЖХ	√	√	√
WCX-ВЭЖХ	√	√	√
Вязкость	√	--	--

Результаты обнаружения посредством ЭХ-ВЭЖХ показаны в таблице 6.

5 Таблица 6. Результаты обнаружения посредством ЭХ-ВЭЖХ в исследовании композиций формул состава

Формула	Продукты для проверки	0 сутки (%)			14 сутки (%)			28 сутки (%)		
		Агрегат	Мономер	Фрагмент	Агрегат	Мономер	Фрагмент	Агрегат	Мономер	Фрагмент
19А	Тип поверхностно-активного вещества	0,5	99,5	0	0,8	99,0	0,2	1,1	98,6	0,3
20А		0,5	99,5	0	0,8	99,0	0,2	1,2	98,5	0,3
21А		0,4	99,6	0	0,8	99,0	0,2	1,1	98,6	0,3
22А	Тип буфера	0,3	99,7	0	0,6	99,2	0,2	0,8	98,9	0,3
23А		0,3	99,7	0	0,6	99,2	0,2	0,8	98,9	0,3
24А		0,4	99,6	0	0,9	98,9	0,2	1,2	98,4	0,4
25А		0,4	99,5	0,1	0,7	99,1	0,2	0,9	98,8	0,3
26А	Тип стабилизатора	0,5	99,5	0	0,9	98,9	0,2	1,2	98,5	0,3
27А		0,4	99,6	0	1,0	98,8	0,2	1,4	98,3	0,3
28А		0,4	99,6	0	0,8	99,0	0,2	1,0	98,7	0,3
29А		0,5	99,5	0	1,0	98,8	0,2	1,4	98,3	0,3
33А	Содержание моноклонального антитела против PD-L1	0,3	99,7	0	0,3	99,6	0,1	0,3	99,4	0,3
34А		0,5	99,5	0	0,9	99,0	0,2	1,1	98,6	0,3

Результаты обнаружения посредством WCX-ВЭЖХ показаны в таблице 7.

Таблица 7. Результаты обнаружения посредством WCX-ВЭЖХ в исследовании композиций формул состава

Формула	Продукты для проверки	0 сутки (%)			14 сутки (%)			28 сутки (%)		
		Кислый компонент	Главный компонент	Основной компонент	Кислый компонент	Главный компонент	Основной компонент	Кислый компонент	Главный компонент	Основной компонент
19А	Тип поверхностно-активного вещества	4,4	92,2	3,4	7,7	87,7	4,6	10,7	83,4	5,9
20А		4,5	91,9	3,6	7,7	87,3	5,0	10,7	83,2	6,1
21А		4,4	92,0	3,6	7,8	87,0	5,1	10,7	83,9	5,5
22А	Тип буфера	4,5	91,9	3,6	8,0	86,9	5,2	11,1	83,0	5,9
23А		4,4	91,9	3,7	7,7	87,3	5,0	10,8	83,3	6,0
24А		4,3	92,7	3,0	9,2	84,3	6,5	13,1	79,6	7,2

Формула	Продукты для проверки	0 сутки (%)			14 сутки (%)			28 сутки (%)		
		Кислый компонент	Главный компонент	Основной компонент	Кислый компонент	Главный компонент	Основной компонент	Кислый компонент	Главный компонент	Основной компонент
25 А		4,3	92,1	3,7	7,0	85,9	7,1	9,2	82,0	8,8
26 А	Тип стабилизатора	4,4	92,0	3,7	6,6	88,4	5,0	8,5	85,3	6,2
27 А		4,4	90,9	4,8	9,5	85,5	4,9	13,3	81,0	5,7
28 А		5,7	90,9	3,4	7,4	87,0	5,7	10,0	83,4	6,6
29 А		4,3	92,2	3,5	6,3	88,5	5,2	7,6	85,9	6,5
33 А		4,4	92,0	3,6	8,4	86,5	5,1	11,4	82,7	5,9
34 А	Содержание моноклонального антитела против PD-L1	4,3	92,0	3,7	7,6	87,2	5,1	10,1	84,1	5,7

(1) Исследование влияния типа поверхностно-активного вещества на стабильность состава

Содержание моноклонального антитела против PD-L1 составляло 200 мг/мл, в качестве буфера использовали 20 мМ ацетата натрия-уксусной кислоты, в качестве стабилизатора использовали 220 мМ пролина (L-пролина) и в качестве поверхностно-активных веществ выбрали 0,02% полисорбата 20, полисорбата 80 и полоксамера P188. Белок-мишень обнаруживали с помощью ЭХ-ВЭЖХ и WСХ-ВЭЖХ, подвергая составы ускоренному старению в течение 0 суток, 14 суток и 28 суток для исследования влияния различных поверхностно-активных веществ на стабильность составов (см. формулы составов 19А, 20А и 21А). Результаты исследования показывают, что полисорбат 20, полисорбат 80 и полоксамер P188 можно применять в качестве поверхностно-активного вещества для состава моноклонального антитела против PD-L1.

(2) Исследование влияния типа стабилизатора на стабильность состава

Содержание моноклонального антитела против PD-L1 составляло 200 мг/мл, в качестве буфера использовали 20 мМ ацетата натрия-уксусной кислоты, в качестве поверхностно-активного вещества использовали 0,02% полисорбат 20, рН составлял 6,4, а в качестве стабилизаторов выбирали 220 мМ L-пролина, 90 мг/мл сахарозы, 250 мМ глицина, 150 мМ гидрохлорида L-аргинина и 150 мМ хлорида натрия. Белок-мишень обнаруживали с помощью ЭХ-ВЭЖХ и WСХ-ВЭЖХ, подвергая составы ускоренному старению в течение 0 суток, 14 суток и 28 суток для исследования влияния различных стабилизаторов на стабильность составов (см. формулы составов 19А, 26А, 27А, 28А и 29А). Результаты исследования показывают, что L-пролин, сахарозу, глицин, гидрохлорид L-аргинина или хлорид натрия можно применять в качестве стабилизатора для состава моноклонального антитела против PD-L1.

(3) Влияние типа буферного компонента на стабильность состава

Содержание моноклонального антитела PD-L1 составляло 200 мг/мл, в качестве стабилизатора

использовали 220 мМ L-пролина, в качестве поверхностно-активного вещества использовали 0,02% полисорбат 20, рН составлял 6,4, а в качестве буферов выбирали 20 мМ ацетата натрия-уксусной кислоты, L-гистидина-уксусной кислоты, L-гистидина-L-гистидин хлористоводородную кислоту, фосфата натрия и лимонной кислоты-гидроксида натрия. Белок-мишень обнаруживали с помощью ЭХ-ВЭЖХ и WСХ-ВЭЖХ, подвергая составы ускоренному старению в течение 0 суток, 14 суток и 28 суток для исследования влияния различных буферов на стабильность составов (см. формулы составов 19А, 22А, 23А, 24А и 25А). Результаты исследования показывают, что буферы ацетат натрия-уксусную кислоту, L-гистидин-уксусную кислоту, L-гистидин-соляную кислоту, фосфат натрия, лимонную кислоту-гидроксид натрия и т. д. можно применять в качестве буферного компонента состава моноклонального антитела против PD-L1. В частности, значимые различия результатов обнаружения посредством ЭХ-ВЭЖХ в формулах, содержащих эти буферные системы, отсутствовали; результаты WСХ-ВЭЖЗ показывают, что после 28 суток ускоренного старения при высокой температуре содержание главного компонента в формуле, содержащей фосфат натрия, и в формуле, содержащей систему лимонная кислота-гидроксид натрия, было слегка пониженным, а содержание главного компонента в формулах, содержащих остальные буферные системы, было близким.

(4) Влияние концентрации моноклонального антитела против PD-L1 на стабильность состава. Результаты исследования формул составов 33А, 34А и 19А показывают, что составы, содержащие моноклональное антитело против PD-L1 в концентрации 20 мг/мл-220 мг/мл, соответствовали требованиям к стабильности состава при определенных условиях, включающих буфер, стабилизатор, поверхностно-активное вещество и/или рН.

Результаты определения вязкости в 0 сутки показаны в таблице 8. Результаты показывают, что: за исключением относительно низкой вязкости формулы 33А с низкой концентрацией моноклонального антитела против PD-L1, значимые различия вязкости других формул составов отсутствовали, и в целом их вязкость находилась в приемлемом диапазоне. Это означает, что характеристики вязкости составов, содержащих относительно высокую концентрацию (например, 220 мг/мл) моноклонального антитела против PD-L1, подходили для получения лекарственного средства (например, подходили для инъекции, например,

подкожной инъекции). Можно видеть, что композиции, описанные в настоящем документе, обладали подходящей вязкостью, что облегчало простое (например, подкожное введение) и быстрое (например, за счет уменьшения количества инъекций и значительного сокращения времени введения) введение, и одновременно улучшало соблюдение пациентом режима 5 лечения и доступность введения для пациента, а также качество жизни пациента.

Таблица 8. Результаты определения вязкости в исследовании композиции состава

Формула	Вязкость (мПа · с)
19 A	18,200
20 A	18,270
21 A	18,470
22 A	17,080
23 A	17,250
24 A	16,390
25 A	20,480
26 A	22,980
27 A	17,440
28 A	17,280
29 A	19,690
33 A	1,239
34 A	22,640

Пример 3

10 Формулы составов дополнительно оптимизировали на основании результатов, описанных в примерах 1 и 2, и дополнительно выполняли скрининг pH, буферных систем, стабилизаторов и поверхностно-активных веществ формул.

1. Скрининг на предмет pH

15 Стабильность различных формул, содержащих 200±12 мг/мл моноклонального антитела против PD-L1 в диапазоне pH 5,0-7,5, анализировали при высокой температуре 40±2 °C. Различия в чистоте белка определяли с помощью ЭХ-ВЭЖХ и WСХ-ВЭЖХ, а различия в содержании частиц и однородности белка определяли с помощью анализа нерастворимых микрочастиц и DLS. Сводная информация о конкретной композиции формулы и результатах

обнаружения приведена в таблице 9.

Таблица 9: Результаты обнаружения через 28 суток ускоренного старения при высокой температуре 40 ± 2 °C в диапазоне pH 4,5-7,5

Содержание моноклонального антитела против PD-L1	Другие компоненты	pH	Мономер согласно ЭХ-ВЭЖХ (%)	Главные компоненты согласно WСХ-ВЭЖХ (%)	Нерастворимые микрочастицы		DLS		
					10 мкм	25 мкм	Z-ср. диаметр (нм)	PDI	
200±12 мг/мл	20 мМ ацетата натрия-уксусной кислоты, 220 мМ L-пролина, 0,02% полисорбата 20	4,5	Не обнаружены, раствор является коллоидным						
		5,0	97,3	83,7	43	8	16,41	3,28	
		5,5	98,3	85,5	23	5	6,74	0,88	
		6,4	98,4	83,3	18	3	10,29	0,37	
	20 мМ РВ, 220 мМ L-пролина, 0,02% полисорбата 20	7,5	96,3	55,8	Н/О	Н/О	28,37	1,35	

"Н/О" означает "не обнаружено"

- 5 Результаты обнаружения посредством ЭХ-ВЭЖХ показывают, что содержание мономера было значительно снижено при pH 5,0 и pH 7,5; результаты обнаружения посредством WСХ-ВЭЖХ показывают, что содержание главного компонента было значительно снижено при pH 7,5. Результаты обнаружения нерастворимых частиц показывают меньшее количество нерастворимых частиц при более низких pH, а также тенденцию к дальнейшему снижению количества нерастворимых частиц с увеличением pH. Индекс PDI отражает однородность раствора, и чем меньше значение, тем лучше однородность. Результаты показывают, что однородность раствора была наилучшей при pH 6,4, и значение PDI раствора продемонстрировало тенденцию сначала к снижению, а затем к увеличению с увеличением pH.
- 10

- На основании приведенных выше результатов дополнительно проверили стабильность моноклонального антитела против PD-L1 в диапазоне pH 6,1-6,7. Различные формулы, содержащие 200±12 мг/мл моноклонального антитела против PD-L1, подвергали воздействию высокой температуры 40 ± 2 °C, различия в чистоте белка обнаруживали с помощью ЭХ-ВЭЖХ и WСХ-ВЭЖХ, а для обнаружения различий в мутности выполняли сравнение значений ОП при 340 нм. Сводная информация о конкретной композиции формулы и результатах
- 15

обнаружения приведена в таблице 10.

Таблица 10. Результаты обнаружения через 28 суток ускоренного старения при высокой температуре 40 ± 2 °С в диапазоне рН 6,1-6,7

Содержание моноклонального антитела против PD-L1	Другие компоненты	рН	Мономер согласно ЭХ-ВЭЖХ (%)	Главный компонент согласно WСХ-ВЭЖХ (%)	ОП _{340 нм}
200±12 мг/мл	20 мМ ацетата натрия-уксусной кислоты, 220 мМ L-пролина, 0,02% полисорбата 20	6,1	98,5	87,0	0,6343
		6,3	98,5	86,3	0,5763
		6,5	98,3	85,3	0,4717
		6,7	98,5	84,0	0,4982

В диапазоне рН 6,1-6,7 результаты ЭХ-ВЭЖХ не демонстрировали значимых различий между различными формулами; результаты WСХ-ВЭЖХ показали тенденцию к незначительному снижению содержания главного компонента по мере увеличения рН; результаты определения мутности при ОП_{340 нм} характеризовались тенденцией сначала к снижению, а затем к увеличению с увеличением рН.

2. Выбор стабилизаторов и буферных систем

Ацетат натрия-уксусную кислоту, L-гистидин-гидрохлорид L-гистидина и цитратные буферные системы отбирали и комбинировали с различными стабилизаторами с целью дальнейшего изучения действия стабилизаторов. Оцениваемые стабилизаторы включали сахарозу, трегалозу и мальтозу в качестве углеводов, L-пролин, гидрохлорид L-аргинина и метионин в качестве аминокислот и маннит, сорбит и глицерин в качестве спиртов; хлорид натрия использовали в качестве контроля для одновременного сравнения.

Различия в чистоте белка определяли с помощью ЭХ-ВЭЖХ и WСХ-ВЭЖХ, а различия в содержании частиц и однородности белка между различными формулами определяли с помощью анализа нерастворимых микрочастиц и DLS. Конкретная композиция формулы и результаты обнаружения показаны в таблицах 11-13.

Таблица 11. Результаты обнаружения для различных стабилизаторов после 28 суток ускоренного старения при высокой температуре 40 ± 2 °С в присутствии буфера на основе

ацетата натрия-уксусной кислоты

Содержание моноклональ- ного антитела против PD-L1	Другие компоненты	Стабилизатор	Мономер согласно ЭХ- ВЭЖХ (%)	Главный компонент согласно WCX- ВЭЖХ (%)	Нерастворимые микрочастицы		DLS		Вязкость (сП, 25 °С)
					10 мкм	25 мкм	Z.ср. диаметр (нм)	PDI	
200±12 мг/мл	20 мМ ацетата натрия- уксусной кислоты рН 6,4±0,1 0,02% полисорбата 20	220 мМ L- пролина	98,5	83,7	18	3	10,74	0,14	17,70
		50 мг/мл сахарозы	98,4	85,0	40	8	12,14	0,29	20,64
		20 мг/мл сахарозы	98,3	84,5	13	5	11,22	0,22	18,90
		150 мМ гидрохлорида L- аргинина	98,3	83,2	18	5	16,91	0,17	17,36
		50 мМ гидрохлорида L- аргинина	98,6	84,5	20	5	16,1	0,2	17,24
		50 мг/мл маннита	98,4	85,2	15	5	13,27	0,22	21,04
		20 мг/мл маннита	98,4	85,2	20	5	10,96	0,2	17,82
		40 мг/мл сорбита	98,4	84,9	30	5	10,88	0,28	19,49
		90 мг/мл трегалозы	98,4	85,1	15	5	13,08	0,63	26,46
		80 мг/мл мальтозы	96,0	86,6	18	8	11,61	0,47	18,78
		20 мг/мл глицерина	98,3	85,3	23	10	11,03	0,1	18,18
		220 мМ L- пролина + 5 мМ L- метионина	98,6	83,3	18	3	10,58	0,25	15,87
		220 мМ L- пролина + 1 мМ динатрий- ЭДТА	98,5	83,3	18	3	11,74	0,18	16,54
		100 мМ гидрохлорида L- аргинина	98,6	83,4	20	0	16,76	0,26	17,55

		+ 100 мМ L-пролина							
		100 мМ хлорида натрия	98,4	85,5	25	5	20,11	0,48	18,56

После 28 суток ускоренного старения при высокой температуре внешний вид при визуальном осмотре показал, что, за исключением желтого окрашивания формулы, содержащей мальтозу, другие формулы не демонстрировали значимых различий во внешнем виде.

Результаты обнаружения согласно ЭХ-ВЭЖХ показывают, что: за исключением относительно низкого содержания мономера в формуле, содержащей мальтозу, другие формулы не демонстрировали значимых различий в обнаруженном уровне мономеров (между 98,3% и 98,6%); результаты обнаружения согласно WCX-ВЭЖХ показывают, что: за исключением изменения структуры пика формулы, содержащей мальтозу, другие формулы не демонстрировали значимых различий в обнаруженном уровне главного компонента (между 83,3% и 85,5%). Результаты обнаружения нерастворимых частиц показывают, что: значимые различия в присутствии различных стабилизаторов отсутствовали. Результаты обнаружения DLS: средний гидродинамический диаметр (Z-средний диаметр) демонстрировал относительно больший гидродинамический диаметр для формулы, содержащей хлорид натрия, причем другие формулы демонстрировали меньший средний размер частиц; результаты оценки коэффициента распределения (PDI) показывают, что, за исключением значений >0,3 для формул, содержащих трегалозу, мальтозу и хлорид натрия, другие формулы демонстрировали отсутствие значимых различий и хорошую однородность. Результаты определения вязкости показывают, что: вязкость формул, содержащих 50 мг/мл сахарозы, 50 мг/мл маннита и 90 мг/мл трегалозы, составляла > 20 сП, а других формул - < 20 сП; формула, содержащая антиоксидант метионин, была слегка менее вязкой, чем формулы, не содержащие метионина.

Таблица 12. Результаты обнаружения для различных стабилизаторов после 28 суток ускоренного старения при высокой температуре 40 ± 2 °C в присутствии буфера на основе L-гистидина-гидрохлорида L-гистидина

Содержание моноклонального	Другие компоненты	Стабилизатор	Мономер согласно	Главный компонент согласно	Нерастворимые микрочастицы (на мл)	DLS
----------------------------	-------------------	--------------	------------------	----------------------------	------------------------------------	-----

антитела против PD- L1			ЭХ-ВЭЖХ (%)	WCX- ВЭЖХ (%)	10 мкм		Z-ср. диаметр (нм)	PDI
					10 мкм	25 мкм		
200±12 мг/мл	20 мМ L- гистидина- гидрохлорида L-гистидина рН 6,4±0,1 0,02% полисорбата 20	220 мМ L-пролина	98,6	83,2	38	3	11,54	0,15
		50 мг/мл сахарозы	98,6	84,4	20	3	12,49	0,3
		20 мг/мл сахарозы	98,6	84,5	60	15	11,74	0,2
		150 мМ гидрохлорида L- аргинина	98,6	83,3	28	8	16,98	0,14
		50 мМ гидрохлорида L- аргинина	98,6	84,2	43	5	17,59	0,20
		50 мг/мл маннита	98,6	84,5	65	20	13,44	0,14
		20 мг/мл маннита	98,6	84,7	20	3	12,49	0,08
		40 мг/мл сорбита	98,7	84,6	10	3	11,7	0,21
		90 мг/мл трегалозы	98,7	84,6	30	3	14,9	0,41
		80 мг/мл мальтозы	97,5	86,8	25	5	13,04	0,39
		20 мг/мл глицерина	98,7	84,9	30	8	12,18	0,01
		100 мМ гидрохлорида L- аргинина + 100 мМ L-пролина	98,9	83,4	48	5	17,36	0,07
		100 мМ хлорида натрия	98,7	84,6	30	10	21,25	0,07

После 28 суток ускоренного старения при высокой температуре внешний вид при визуальном осмотре показал, что, за исключением желтого окрашивания формулы, содержащей мальтозу, другие формулы не демонстрировали значимых различий во внешнем виде.

5 Результаты обнаружения согласно ЭХ-ВЭЖХ показывают, что: за исключением относительно низкого содержания мономера в формуле, содержащей мальтозу, другие формулы не демонстрировали значимых различий в обнаруженном уровне мономеров (между 98,6% и 98,9%); результаты обнаружения согласно WCX-ВЭЖХ показывают, что: за исключением изменения структуры пика формулы, содержащей мальтозу, другие формулы не демонстрировали значимых различий в обнаруженном уровне главного компонента (между 83,2% и 84,9%).

10 Результаты обнаружения нерастворимых частиц показывают, что: значимые различия в присутствии различных стабилизаторов отсутствовали. При обнаружении DLS результаты определения Z-среднего диаметра показывают относительно больший гидродинамический диаметр для формулы, содержащей хлорид натрия, причем другие

формулы демонстрировали меньший средний размер частиц; результаты PDI показывают, что, за исключением значений PDI >0,3 для формул, содержащих трегалозу и мальтозу, другие формулы демонстрировали отсутствие значимых различий и хорошую однородность.

Таблица 13. Результаты обнаружения для различных стабилизаторов после 28 суток

5 ускоренного старения при высокой температуре 40 ± 2 °C в присутствии цитратного буфера

Содержание моноклонального антитела против PD-L1	Другие компоненты	Стабилизатор	Нерастворимые микрочастицы (на мл)		DLS	
			10 мкм	25 мкм	Z.ср. диаметр (нм)	PDI
200±12 мг/мл	20 мМ цитрата, рН 6,4±0,1 0,02% твин-20	220 мМ L-пролина	15	5	21,27	0,45
		50 мг/мл сахарозы	28	3	23,59	0,32
		150 мМ гидрохлорида L-аргинина	25	8	18,3	0,08
		50 мг/мл маннита	20	10	25,78	0,18
		100 мМ гидрохлорида L-аргинина + 100 мМ L-пролина	45	5	18,31	0,2

Результаты обнаружения нерастворимых частиц показывают, что: значимые различия в присутствии различных стабилизаторов отсутствовали. Результаты обнаружения DLS показывают, что: за исключением того, что значения Z-среднего диаметра для формул, содержащих гидрохлорид L-аргинина, не сильно отличались от значений, полученных при
 10 использовании других буферных систем, другие формулы, содержащие другие стабилизаторы, характеризовались относительно большими значениями гидродинамического диаметра, согласно значениям Z-среднего диаметра в присутствии цитратной буферной системы по сравнению со значениями, полученными в присутствии двух других буферных систем, что неблагоприятно для структурной стабильности белка; значения PDI, обнаруженные для
 15 формул, содержащих различные стабилизаторы, отличались, и формулы, содержащие гидрохлорид L-аргинина и маннит, характеризовались относительно небольшими значениями PDI и демонстрировали хорошую однородность.

3. Скрининг поверхностно-активных веществ

Выполнили проверку стабильности моноклонального антитела против PD-L1 в различных
 20 формулах, в частности, влияния различных поверхностно-активных веществ на стабильность

белка. Различия чистоты белка обнаруживали с помощью ЭХ-ВЭЖХ и WСХ-ВЭЖХ в эксперименте по ускоренному старению (высокая температура 40 ± 2 °С), нерастворимые частицы обнаруживали путем встряхивания в течение 7 суток при 150 об/мин при 25 ± 2 °С, а различия количества частиц и однородности в различных формулах обнаруживали с помощью DLS. Конкретная композиция формулы и результаты обнаружения показаны в таблице 14.

Таблица 14. Результаты проверки и обнаружения для скрининга различных поверхностно-активных веществ

Содержание моноклонального антитела против PD-L1	№	20 мМ ацетата натрия-уксусной кислоты	220 мМ L-пролина	Поверхностно-активное вещество	Ускоренное старение при 40 ± 2 °С в течение 28 суток		Встряхивание при 150 об/мин при 25 ± 2 °С в течение 7 суток			
					Мономер согласно ЭХ-ВЭЖХ (%)	Главный компонент согласно WСХ-ВЭЖХ (%)	Нерастворимые микрочастицы (на мл)		DLS	
							10 мкм	25 мкм	Z, ср. диаметр (нм)	PDI
200±12 мг/мл	1	-	-	-	98,3	84,5	465	385	10,26	0,12
	2	+	-	-	98,1	85,0	980	775	9,83	0,31
	3	-	+	-	98,5	81,5	910	615	10,02	0,05
	4	+	+	-	98,6	83,7	625	300	10,02	0,36
	5	+	+	+0,02% полисорбата 20	98,6	83,4	10	0	9,86	0,20
	6	+	+	+0,02% полисорбата 80	98,5	83,2	0	0	10,24	0,18
	7	+	+	+0,02% полксамера 188	98,6	83,9	10	0	10,16	0,21

«-» обозначает "не добавляли к формуле", а «+» - "добавляли к формуле"

После 28 суток ускоренного старения при 40 ± 2 °С результаты обнаружения посредством ЭХ-ВЭЖХ показывают, что: различные формулы не демонстрировали значимых различий; результаты обнаружения посредством WСХ-ВЭЖХ показывают, что: формула, содержащая только 220 мМ L-пролина, демонстрировала относительно значимое снижение уровня главного компонента по сравнению с другими формулами, а другие формулы не демонстрировали значимых различий уровня главного компонента.

После 7 суток встряхивания при 150 об/мин при 25 ± 2 °C результаты обнаружения нерастворимых частиц показали, что количество нерастворимых частиц в формулах, содержащих поверхностно-активное вещество, было небольшим, в то время как в других формулах без поверхностно-активного вещества - относительно большим. Результаты обнаружения DLS показывают, что добавление различных поверхностно-активных веществ (полисорбата 20, полисорбата 80 или полоксамера 188) могло улучшить значение PDI, и формулы, содержащие различные поверхностно-активные вещества, не демонстрировали значимых различий с точки зрения этого значения.

Пример 4

10 Дальнейшую оптимизацию вспомогательного вещества и pH формулы выполняли на основе результатов, полученных в предыдущих примерах, и получили следующие формулы составов в соответствии с таблицей 15:

Таблица 15. Различные композиции формул составов в подтверждающем эксперименте

Формула	Содержание моноклонального антитела против PD-L1 (мг/мл)	Буферная система	Вспомогательное вещество	Поверхностно-активное вещество	pH
20	200±5	20 мМ ацетата натрия-уксусной кислоты	150 мМ глицина	0,02% полисорбата 20	6,1
21	200±5	20 мМ ацетата натрия-уксусной кислоты	150 мМ глицина	0,02% полисорбата 20	6,3
22	200±5	20 мМ ацетата натрия-уксусной кислоты	150 мМ глицина	0,02% полисорбата 20	6,5
23	200±5	20 мМ ацетата натрия-уксусной кислоты	150 мМ глицина	0,02% полисорбата 20	6,7
24	200±5	20 мМ ацетата натрия-уксусной кислоты	220 мМ L-пролина	0,02% полисорбата 20	6,1
25	200±5	20 мМ ацетата натрия-уксусной кислоты	220 мМ L-пролина	0,02% полисорбата 20	6,3
26	200±5	20 мМ ацетата натрия-уксусной кислоты	220 мМ L-пролина	0,02% полисорбата 20	6,5
27	200±5	20 мМ ацетата натрия-уксусной кислоты	220 мМ L-пролина	0,02% полисорбата 20	6,7
28	200±5	20 мМ ацетата натрия-уксусной кислоты	150 мМ L-пролина	0,02% полисорбата 20	6,1
29	200±5	20 мМ ацетата натрия-уксусной кислоты	150 мМ L-пролина	0,02% полисорбата 20	6,3
30	200±5	20 мМ ацетата натрия-уксусной кислоты	150 мМ L-пролина	0,02% полисорбата 20	6,5
31	200±5	20 мМ ацетата натрия-уксусной кислоты	150 мМ L-пролина	0,02% полисорбата 20	6,7

Формулы составов, приведенные в таблице 15, подвергали скринингу и обнаружению в соответствии с таблицей 16.

Таблица 16. Обнаруживаемые параметры для подтверждения формул составов

Обнаруживаемые параметры	Продолжительность исследования (суток) (температура: 40±2 °С)		
	0	14	28
ЭХ-ВЭЖХ	√	√	√
WCX-ВЭЖХ	√	√	√
Осмотическое давление	√	--	--

1) Определение содержания основного пика посредством ЭХ-ВЭЖХ

- 5 Результаты содержания основного пика и результаты содержания агрегатов, соответствующие формулам 20-31 и обнаруженные с помощью ЭХ-ВЭЖХ, показаны на ФИГ. 9 и ФИГ. 10, соответственно.

Сравнивая результаты формул 20-23, 24-27 и 28-31 по отдельности, можно видеть, что различия влияния рН на стабильность незначимы при значениях рН в диапазоне 6,1-6,7.

- 10 При сравнении содержания агрегатов в формулах 20-23 и 28-31 по отдельности установлено, что включение L-пролина коррелировало с дальнейшим улучшением стабильности.

При сравнении результатов для формул 24-27 и 28-31 по отдельности установлено отсутствие значимых различий влияния 220 мМ L-пролина и 150 мМ L-пролина на стабильность.

2) WCX-ВЭЖХ-обнаружение содержания кислых компонентов

- 15 Результаты определения содержания кислых компонентов формул 20-31, обнаруженных с помощью WCX (после ускоренного старения при высокой температуре 40±2 °С), показаны на ФИГ. 11.

Сравнивая кислые компоненты формул 20-23, формул 24-27 и формул 28-31 по отдельности, можно видеть тенденцию к увеличению содержания кислых компонентов в формулах при рН

- 20 6,1-6,7 с увеличением рН, однако содержание компонентов во всех формулах находилось в приемлемом диапазоне.

При сравнении кислых компонентов формул 20-23 и 28-31 по отдельности установлено, что включение L-пролина коррелировало с дальнейшим улучшением стабильности.

- 25 При сравнении кислых компонентов формул 24-27 и 28-31 по отдельности установлено отсутствие значимых различий влияния 220 мМ L-пролина и 150 мМ L-пролина на

стабильность.

3) Определение осмотического давления

Результаты определения осмотического давления показаны в таблице 17.

Таблица 17. Результаты определения осмотического давления

Формула	Вспомогательное вещество	Осмотическое давление (мОсмоль/кг)
20	150 мМ глицина	306
24	220 мМ L-пролина	373
28	150 мМ L-пролина	296

- 5 Осмотическое давление, которое составляло менее 600 мОсмоль/кг, находилось в безопасных пределах для вливания в соответствии со стандартами INS (общество инфузионных медсестер), и, следовательно, осмотическое давление для формул 20, 24 и 28 находилось в безопасных пределах.

Пример 5

- 10 В ходе серии экспериментов по определению содержания белка, диапазона pH, скринингу буферов и скринингу стабилизаторов выбрали предпочтительную комбинацию (ацетат натрия-уксусная кислота в качестве буферной системы, L-пролин в качестве стабилизатора и полисорбат 20 в качестве поверхностно-активного вещества). Влияние концентрации ацетата натрия-уксусной кислоты, концентрации L-пролина, концентрации полисорбата 20,
- 15 содержания белка моноклонального антитела против PD-L1 и pH на стабильность белка дополнительно проверили в ходе эксперимента по схеме DoE. 5 факторов проверяли с использованием классической двухуровневой схемы скрининга согласно программному обеспечению JMP15.0, с помощью которого получили 18 комбинаций за счет включения в
- 20 схему 2 уровней и 1 повтора 1 центральной точки. Схема эксперимента приведена ниже в таблице 18.

Таблица 18. Различные композиции формул составов в эксперименте DOE

Формула	Содержание моноклонального антитела против PD-L1 (мг/мл)	Концентрация ацетата натрия (мМ)	Концентрация L-пролина (мМ)	Концентрация полисорбата 20 (%)	pH
1A	50	35	50	0	5,9
2 A	50	35	390	0	6,9

Формула	Содержание моноклонального антитела против PD-L1 (мг/мл)	Концентрация ацетата натрия (мМ)	Концентрация L-пролина (мМ)	Концентрация полисорбата 20 (%)	pH
3 A	220	5	390	0,04	5,9
4 A	135	20	220	0,02	6,4
5 A	220	5	390	0	6,9
6 A	50	35	50	0,04	6,9
7 A	220	35	390	0,04	6,9
8 A	220	35	390	0	5,9
9 A	220	35	50	0,04	5,9
10 A	50	5	50	0,04	5,9
11 A	50	5	50	0	6,9
12 A	50	35	390	0,04	5,9
13 A	50	5	390	0	5,9
14 A	220	35	50	0	6,9
15 A	220	5	50	0	5,9
16 A	50	5	390	0,04	6,9
17 A	135	20	220	0,02	6,4
18 A	220	5	50	0,04	6,9

После ускоренного старения в течение 14 суток и 28 суток при высокой температуре (40 ± 2 °C) вышеуказанные формулы подвергали обнаружению содержания мономера посредством ЭХ-ВЭЖХ и содержания главного компонента посредством WСХ-ВЭЖХ; сводные результаты приведены в таблице 19.

5 Таблица 19. Результаты обнаружения различных формул в эксперименте схемы DOE по определению композиции состава

№	Мономер согласно ЭХ-ВЭЖХ (%)			Главный компонент согласно WСХ-ВЭЖХ (%)		
	0 сутки	14 сутки	28 сутки	0 сутки	14 сутки	28 сутки
1A	99,6	99,5	99,1	92,4	89,6	86,5
2A	99,4	99,0	98,8	92,1	84,3	77,3
3A	99,5	98,9	98,6	92,0	88,9	85,1
4A	99,6	99,0	98,7	92,2	87,8	83,4
5A	99,4	98,5	98,1	91,8	83,1	75,7

№	Мономер согласно ЭХ-ВЭЖХ (%)			Главный компонент согласно WСХ-ВЭЖХ (%)		
	0 сутки	14 сутки	28 сутки	0 сутки	14 сутки	28 сутки
6А	99,3	98,6	98,6	92,2	86,0	80,8
7А	99,3	98,5	98,0	91,9	84,2	77,8
8А	99,5	98,8	98,5	92,2	88,4	85,0
9А	99,5	98,8	98,3	92,3	89,5	85,9
10А	99,6	99,3	99,1	92,5	89,7	87,2
11А	99,6	99,1	98,7	92,6	85,9	80,2
12А	99,3	99,3	99,2	93,6	89,2	85,8
13А	99,6	99,4	99,3	92,7	89,1	85,9
14А	99,3	98,6	97,8	92,8	86,5	81,5
15А	99,5	98,7	98,3	92,2	89,1	86,1
16А	99,5	99,1	98,9	92,6	82,5	74,2
17А	99,6	99,0	98,8	93,4	88,1	83,1
18А	99,3	98,3	97,7	91,8	85,9	81,1

Результаты показывают, что: концентрация буферной системы на основе ацетата натрия (5-35 мМ), концентрация стабилизатора L-пролина (50-390 мМ) и концентрация полисорбата 20 (0-0,04%) не оказывали значимого влияния на содержание мономера согласно ЭХ-ВЭЖХ и главного компонента согласно WСХ-ВЭЖХ при обнаружении белка, и изменения, имевшие место в перечисленных диапазонах, являлись небольшими. Содержание белка и рН влияли на содержание мономера согласно ЭХ-ВЭЖХ и главного компонента согласно WСХ-ВЭЖХ при обнаружении белка, и изменения, имевшие место в перечисленных диапазонах, являлись большими. После 28 суток при высокой температуре чистота мономера согласно ЭХ-ВЭЖХ составляла не менее 95% при концентрации белка 50-220 мг/мл, и содержание главного компонента согласно WСХ-ВЭЖХ составляло не менее 74% при рН от 5,9 до 6,9; эти параметры находились в приемлемом диапазоне, и поэтому указанное изменение определили как приемлемое.

Пример 6

Исследование стабильности при ускоренном старении выполняли для предпочтительной формулы. Композиция формулы в образце представляла собой: 200±20 мг/мл белка моноклонального антитела против PD-L1, 20 мМ ацетата натрия-уксусной кислоты, 220 мМ L-пролина и 0,02% полисорбата 20, рН 6,4±0,1. Аликвоты образцов помещали во флаконы, хранили при 25±2 °С в течение 9 месяцев и отбирали образцы в конце 0, 3, 6 и 9 месяцев. На основе ключевых параметров проверки для определения стабильности исследовали чистоту мономера в образце (ЭХ-ВЭЖХ), чистоту главного компонента при распределении заряда (WCX-ВЭЖХ), выполняли капиллярный гель-электрофорез в восстанавливающих и невосстанавливающих условиях (КЭ-ДСН), определяли содержание белка и т. д.; результаты показаны в таблице 20.

Таблица 20. Данные исследования стабильности при ускоренном старении (25±2 °С, 9 месяцев)

Обнаруживаемые показатели	Условия проверки: 25±2 °С (месяцы)			
	0	3	6	9
Мономер согласно ЭХ-ВЭЖХ (%)	99,6	99,2	99,1	98,8
Главный компонент согласно WCX-ВЭЖХ (%)	92,5	86,5	83,8	78,0
Чистота согласно КЭ-ДСН в восстанавливающих условиях (%)	98,0	96,0	94,9	93,8
Чистота согласно КЭ-ДСН в невосстанавливающих условиях (%)	98,5	96,5	94,4	92,1
Содержание белка (мг/мл)	184,1	187,1	186,8	187,2

Результаты показывают, что при хранении образца при 25±2 °С в течение 9 месяцев все показатели образца находились в приемлемом диапазоне по сравнению с результатами в 0 сутки. Это говорит о возможности сохранения стабильности формулы состава согласно настоящему изобретению после хранения при комнатной температуре в течение 9 месяцев.

Пример 7

Долгосрочное исследование стабильности выполняли для предпочтительной формулы. Композиция формулы в образце представляла собой: 200±20 мг/мл белка моноклонального антитела против PD-L1, 20 мМ ацетата натрия-уксусной кислоты, 220 мМ L-пролина и 0,02%

полисорбата 20, рН 6,4±0,1. Аликвоты образцов помещали во флаконы, хранили при 5±3 °С в течение 18 месяцев и отбирали образцы в конце 0, 6, 12 и 18 месяцев. На основе ключевых параметров проверки для определения стабильности исследовали чистоту мономера в образце (ЭХ-ВЭЖХ), чистоту главного компонента при распределении заряда (WCX-ВЭЖХ), выполняли капиллярный гель-электрофорез в восстанавливающих и невосстанавливающих условиях (КЭ-ДСН), определяли содержание белка и т. д.; результаты показаны в таблице 21.

Таблица 21. Данные долгосрочного (5±3°С, 18 месяцев) исследования стабильности

Обнаруживаемые показатели	Условия проверки: 5±3°С (месяцев)			
	0	6	12	18
Мономер согласно ЭХ-ВЭЖХ (%)	99,6	99,4	99,4	99,2
Главный компонент согласно WCX-ВЭЖХ (%)	92,0	90,2	89,2	89,7
Чистота согласно КЭ-ДСН в восстанавливающих условиях (%)	97,9	97,8	97,3	96,1
Чистота согласно КЭ-ДСН в невосстанавливающих условиях (%)	98,6	98,2	97,8	99,9
Содержание белка (мг/мл)	190,7	191,6	190,2	191,5

Результаты показывают, что при хранении образца при 5±3 °С в течение 18 месяцев все соответствующие обнаруживаемые показатели образца находились в приемлемом диапазоне по сравнению с результатами в 0 сутки. Это говорит о возможности сохранения стабильности формулы состава согласно настоящему изобретению после хранения при температуре 5±3 °С в течение 18 месяцев.

Приведенное выше подробное описание представлено в качестве иллюстрации и примера и не предназначено для ограничения рамок прилагаемой формулы изобретения. Различные варианты вариантов реализации, перечисленных в настоящей заявке, очевидны для специалистов в данной области техники и входят в рамки прилагаемой формулы изобретения и ее эквивалентов.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Композиция, содержащая антигенсвязывающий фрагмент и вспомогательное вещество, причем указанный антигенсвязывающий фрагмент содержит одиночный переменный домен иммуноглобулина, способный специфично связываться с PD-L1 и содержащий CDR1-3, причем указанный CDR3 содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 47, а вспомогательное вещество выбрано из одного или более соединений из группы, состоящей из: пролина, маннита, сахарозы, глицина и гидрохлорида L-аргинина, или вспомогательное вещество выбрано из одного или более соединений из группы, состоящей из: пролина, сахарозы, маннита, сорбита и глицерина.
2. Композиция по п. 1, отличающаяся тем, что указанный CDR2 содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 46.
3. Композиция по любому из пп. 1-2, отличающаяся тем, что указанный CDR1 содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 45 или 48.
4. Композиция по любому из пп. 1-3, отличающаяся тем, что одиночный переменный домен иммуноглобулина содержит аминокислотную последовательность, представленную в любой из SEQ ID NO: 1 - 6.
5. Композиция по любому из пп. 1-4, характеризующаяся тем, что указанный PD-L1 представляет собой PD-L1 человека.
6. Композиция по любому из пп. 1-5, отличающаяся тем, что указанный антигенсвязывающий фрагмент содержит Fc-область иммуноглобулина.
7. Композиция по п. 6, отличающаяся тем, что N-конец Fc-области иммуноглобулина непосредственно или опосредованно связан с C-концом одиночного переменного домена иммуноглобулина.
8. Композиция по любому из пп. 6-7, отличающаяся тем, что N-конец Fc-области иммуноглобулина соединен с C-концом одиночного переменного домена иммуноглобулина посредством линкера.
9. Композиция по п. 8, отличающаяся тем, что линкер содержит аминокислотную последовательность, представленную в любой из SEQ ID NO: 42 - 44.
10. Композиция по любому из пп. 6-9, отличающаяся тем, что Fc-область иммуноглобулина

содержит Fc-область, происходящую от иммуноглобулина, выбранного из группы, состоящей из: IgG1, IgG2, IgG3 и IgG4.

11. Композиция по любому из пп. 6-10, отличающаяся тем, что Fc-область иммуноглобулина не обладает ADCC-активностью; и/или Fc-область иммуноглобулина не обладает CDC-активностью.
12. Композиция по любому из пп. 6-11, отличающаяся тем, что Fc-область иммуноглобулина имеет человеческое происхождение.
13. Композиция по любому из пп. 6-12, отличающаяся тем, что Fc-область иммуноглобулина происходит от IgG человека.
14. Композиция по любому из пп. 6-13, отличающаяся тем, что Fc-область иммуноглобулина содержит аминокислотную последовательность, представленную в любой из SEQ ID NO: 7 - 9.
15. Композиция по любому из пп. 1-14, отличающаяся тем, что антигенсвязывающий фрагмент содержит аминокислотную последовательность, представленную в любой из SEQ ID NO: 14 - 31.
16. Композиция по любому из пп. 1-15, отличающаяся тем, что указанный антигенсвязывающий фрагмент находится в концентрации от приблизительно 1 мг/мл до приблизительно 220 мг/мл.
17. Композиция по любому из пп. 1-16, отличающаяся тем, что указанный антигенсвязывающий фрагмент находится в концентрации от приблизительно 20 мг/мл до приблизительно 220 мг/мл.
18. Композиция по любому из пп. 1-17, отличающаяся тем, что указанный антигенсвязывающий фрагмент находится в концентрации от приблизительно 50 мг/мл до приблизительно 200 мг/мл.
19. Композиция по любому из пп. 1-17, отличающаяся тем, что указанный антигенсвязывающий фрагмент находится в концентрации от приблизительно 180 мг/мл до приблизительно 220 мг/мл.
20. Композиция по любому из пп. 1-15, отличающаяся тем, что указанный антигенсвязывающий фрагмент находится в концентрации от приблизительно 100 мг/мл до приблизительно 280 мг/мл.
21. Композиция по любому из пп. 1-15, отличающаяся тем, что указанный

антигенсвязывающий фрагмент находится в концентрации от приблизительно 150 мг/мл до приблизительно 250 мг/мл.

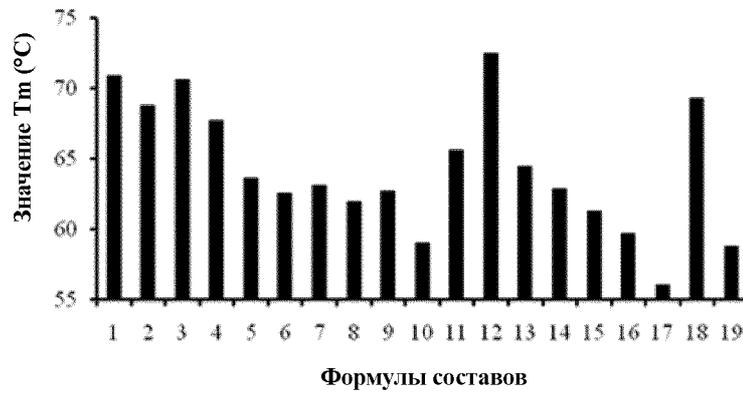
22. Композиция по любому из пп. 1-21, отличающаяся тем, что указанное вспомогательное вещество находится в концентрации от приблизительно 50 мМ до приблизительно 500 мМ.
- 5 23. Композиция по любому из пп. 1-22, отличающаяся тем, что указанное вспомогательное вещество содержит пролин в концентрации от приблизительно 50 мМ до приблизительно 390 мМ.
24. Композиция по любому из пп. 1-23, отличающаяся тем, что указанное вспомогательное вещество содержит пролин в концентрации от приблизительно 150 мМ до приблизительно 250 мМ.
- 10 25. Композиция по любому из пп. 1-24, отличающаяся тем, что указанное вспомогательное вещество содержит пролин в концентрации от приблизительно 150 мМ до приблизительно 220 мМ.
26. Композиция по любому из пп. 1-25, отличающаяся тем, что указанное вспомогательное вещество содержит L-пролин в концентрации от приблизительно 150 мМ до приблизительно 220 мМ.
- 15 27. Композиция по любому из пп. 1-26, отличающаяся тем, что указанное вспомогательное вещество содержит L-пролин в концентрации от приблизительно 165 мМ до приблизительно 275 мМ.
- 20 28. Композиция по любому из пп. 1-27, отличающаяся тем, что указанное вспомогательное вещество содержит маннит в концентрации от приблизительно 50 мМ до приблизительно 500 мМ.
29. Композиция по любому из пп. 1-28, отличающаяся тем, что указанное вспомогательное вещество содержит сахарозу в концентрации от приблизительно 50 мМ до приблизительно 500 мМ.
- 25 30. Композиция по любому из пп. 1-29, отличающаяся тем, что указанное вспомогательное вещество содержит сахарозу в концентрации от приблизительно 90 мМ до приблизительно 500 мМ.
31. Композиция по любому из пп. 1-30, отличающаяся тем, что указанное вспомогательное вещество содержит глицин в концентрации от приблизительно 50 мМ до приблизительно 500 мМ.
- 30

32. Композиция по любому из пп. 1-31, отличающаяся тем, что указанное вспомогательное вещество содержит глицин в концентрации от приблизительно 150 мМ до приблизительно 250 мМ.
33. Композиция по любому из пп. 1-32, отличающаяся тем, что указанное вспомогательное
5 вещество содержит гидрохлорид L-аргинина в концентрации от приблизительно 50 мМ до приблизительно 500 мМ.
34. Композиция по любому из пп. 1-33, отличающаяся тем, что указанное вспомогательное вещество содержит гидрохлорид L-аргинина в концентрации от приблизительно 150 мМ до приблизительно 500 мМ.
- 10 35. Композиция по любому из пп. 1-34, отличающаяся тем, что указанное вспомогательное вещество содержит сорбит в концентрации от приблизительно 50 мМ до приблизительно 500 мМ.
36. Композиция по любому из пп. 1-35, отличающаяся тем, что указанное вспомогательное
15 вещество содержит сорбит в концентрации от приблизительно 100 мМ до приблизительно 300 мМ.
37. Композиция по любому из пп. 1-36, отличающаяся тем, что указанное вспомогательное вещество содержит глицерин в концентрации от 50 мМ до приблизительно 500 мМ.
38. Композиция по любому из пп. 1-37, отличающаяся тем, что указанное вспомогательное вещество содержит глицерин в концентрации от 100 мМ до приблизительно 300 мМ.
- 20 39. Композиция по любому из пп. 1-38, отличающаяся тем, что рН указанной композиции составляет от приблизительно 5,0 до приблизительно 7,5.
40. Композиция по любому из пп. 1-39, отличающаяся тем, что рН указанной композиции составляет от приблизительно 5,9 до приблизительно 6,9.
41. Композиция по любому из пп. 1-40, отличающаяся тем, что рН указанной композиции
25 составляет от приблизительно 6,3 до приблизительно 6,5.
42. Композиция по любому из пп. 1-41, отличающаяся тем, что рН указанной композиции составляет приблизительно 6,4.
43. Композиция по любому из пп. 1-42, содержащая буферный компонент, отличающаяся тем,
30 что указанный буферный компонент выбран из одного или более из группы, состоящей из: ацетата натрия-уксусной кислоты, гистидина-уксусной кислоты, L-гистидина-гидрохлорида L-гистидина, фосфата натрия и лимонной кислоты-гидроксида натрия.

44. Композиция по п. 43, отличающаяся тем, что указанный буферный компонент находится в концентрации от приблизительно 5 мМ до приблизительно 50 мМ.
45. Композиция по любому из пп. 43-44, отличающаяся тем, что буферный компонент содержит ацетат натрия-уксусную кислоту в концентрации от приблизительно 5 мМ до
5 приблизительно 35 мМ.
46. Композиция по любому из пп. 43-45, отличающаяся тем, что буферный компонент содержит ацетат натрия-уксусную кислоту в концентрации от приблизительно 10 мМ до приблизительно 30 мМ.
47. Композиция по любому из пп. 43-46, отличающаяся тем, что буферный компонент
10 содержит ацетат натрия-уксусную кислоту в концентрации приблизительно 20 мМ.
48. Композиция по любому из пп. 1-47, содержащая поверхностно-активное вещество, отличающаяся тем, что указанное поверхностно-активное вещество выбрано из одного или более из группы, состоящей из: полисорбата 20, полисорбата 80 и полоксамера 188.
49. Композиция по п. 48, отличающаяся тем, что указанное поверхностно-активное вещество
15 находится в концентрации от приблизительно 0 мг/мл до приблизительно 0,8 мг/мл.
50. Композиция по любому из пп. 48-49, отличающаяся тем, что указанное поверхностно-активное вещество содержит полисорбат 20 в концентрации от приблизительно 0 мг/мл до приблизительно 0,4 мг/мл.
51. Композиция по любому из пп. 48-50, отличающаяся тем, что указанное поверхностно-активное вещество содержит полисорбат 20 в концентрации от приблизительно 0,2 мг/мл до приблизительно 0,4 мг/мл.
20
52. Композиция по любому из пп. 48-50, отличающаяся тем, что указанное поверхностно-активное вещество содержит полисорбат 20 в концентрации от приблизительно 0,1 мг/мл до приблизительно 0,3 мг/мл.
- 25 53. Композиция по любому из пп. 48-52, отличающаяся тем, что поверхностно-активное вещество содержит полисорбат 20 в концентрации приблизительно 0,2 мг/мл.
54. Композиция по любому из пп. 1-53, содержащая:
- 1) от приблизительно 20 мг/мл до приблизительно 220 мг/мл антигенсвязывающего фрагмента по любому из пп. 1-15;
 - 30 2) от приблизительно 5 мМ до приблизительно 35 мМ ацетата натрия-уксусной кислоты;
 - 3) от приблизительно 50 мМ до приблизительно 390 мМ пролина; и

- 4) от приблизительно 0 мг/мл до приблизительно 0,4 мг/мл полисорбата 20;
причем рН указанной композиции составляет от приблизительно 5,9 до приблизительно 6,9.
55. Композиция по любому из пп. 1-54, содержащая:
- 1) от приблизительно 50 мг/мл до приблизительно 220 мг/мл антигенсвязывающего фрагмента по любому из пп. 1-15;
 - 2) от приблизительно 10 мМ до приблизительно 30 мМ ацетата натрия-уксусной кислоты;
 - 3) от приблизительно 150 мМ до приблизительно 250 мМ пролина; и
 - 4) от приблизительно 0,2 мг/мл до приблизительно 0,4 мг/мл полисорбата 20;
- причем рН указанной композиции составляет от приблизительно 6,3 до приблизительно 6,5.
- 10 56. Композиция по любому из пп. 1-55, содержащая:
- 1) приблизительно 200 мг/мл антигенсвязывающего фрагмента по любому из пп. 1-15;
 - 2) приблизительно 20 мМ ацетата натрия-уксусной кислоты;
 - 3) приблизительно 220 мМ L-пролина; и
 - 4) приблизительно 0,2 мг/мл полисорбата 20;
- 15 причем рН указанной композиции составляет приблизительно 6,4.
57. Композиция по любому из пп. 1-56, отличающаяся тем, что указанную композицию применяют для инъекции.
58. Композиция по любому из пп. 1-57, отличающаяся тем, что указанную композицию применяют для подкожной инъекции.
- 20 59. Композиция по любому из пп. 1-58, отличающаяся тем, что указанная композиция представляет собой состав.
60. Композиция по любому из пп. 1-59, отличающаяся тем, что указанная композиция представляет собой жидкий состав.
61. Набор, содержащий композицию по любому из пп. 1-60 и контейнер, содержащий
- 25 композицию по любому из пп. 1-60.
62. Набор по п. 61, отличающийся тем, что указанный контейнер содержит стеклянный флакон.
63. Набор по любому из пп. 61-62, отличающийся тем, что объем указанной композиции в контейнере составляет от приблизительно 0,5 мл до приблизительно 5,0 мл.
- 30 64. Набор по любому из пп. 61-63, отличающийся тем, что объем указанной композиции в контейнере составляет от приблизительно 0,5 мл до приблизительно 1,5 мл.

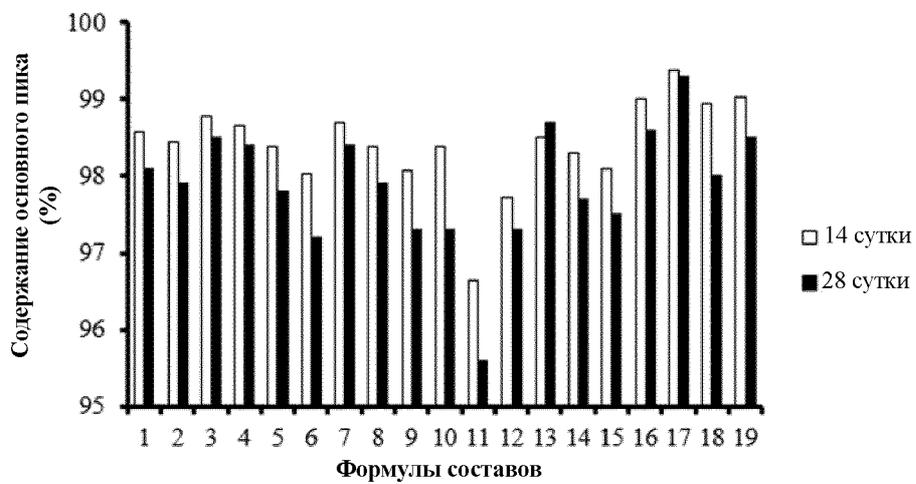
65. Применение композиции по любому из пп. 1-60 и/или набора по любому из пп. 61-64 для получения лекарственного средства для профилактики, облегчения и/или лечения опухоли.
66. Применение по п. 65, отличающееся тем, что указанная опухоль включает PD-L1-положительную опухоль.
- 5
67. Применение по любому из пп. 65 - 66, отличающееся тем, что указанная опухоль включает злокачественную солидную опухоль.
68. Применение композиции по любому из пп. 1-60 и/или набора по любому из пп. 61-64 для получения лекарственного средства для профилактики, облегчения и/или лечения инфекционного заболевания.
- 10
69. Применение по п. 68, отличающееся тем, что указанное инфекционное заболевание включает заболевание, вызванное вирусной инфекцией, бактериальной инфекцией, грибковой инфекцией и/или паразитарной инфекцией.



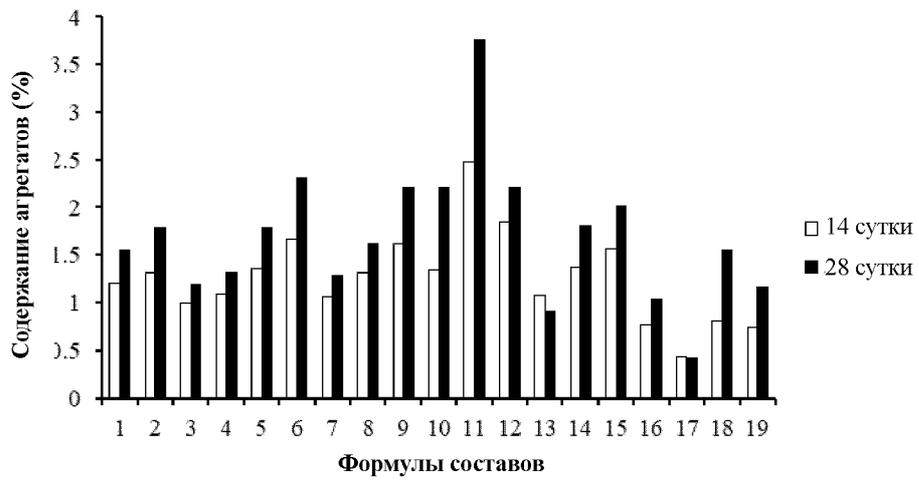
ФИГ. 1



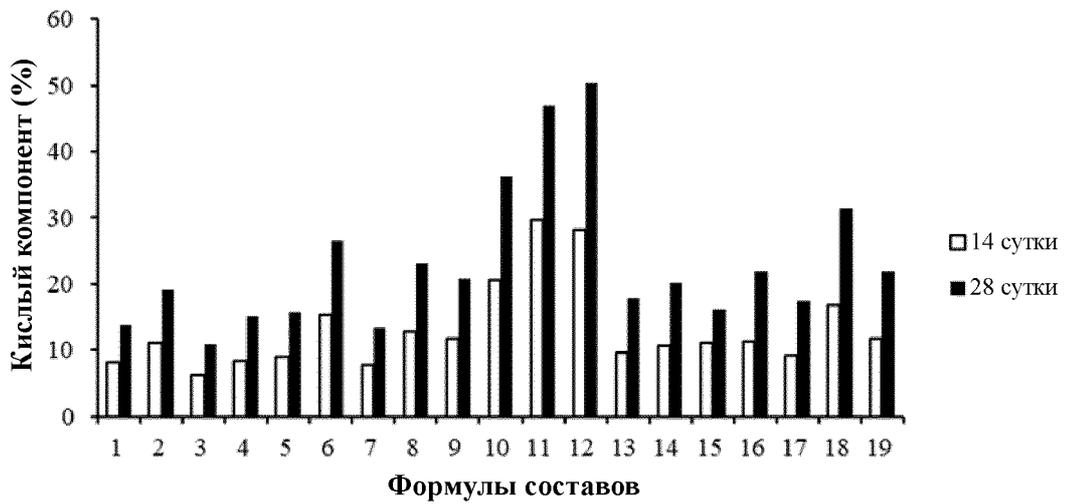
ФИГ. 2



ФИГ. 3



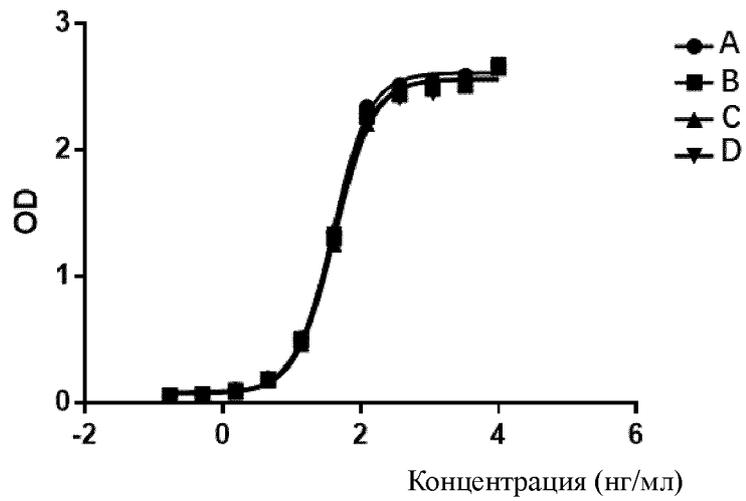
ФИГ. 4



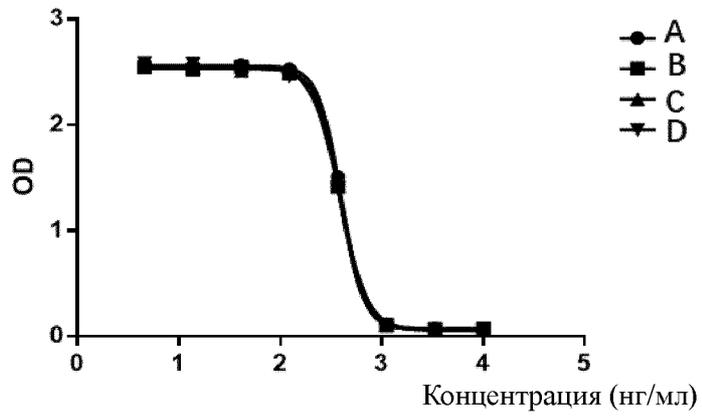
ФИГ. 5



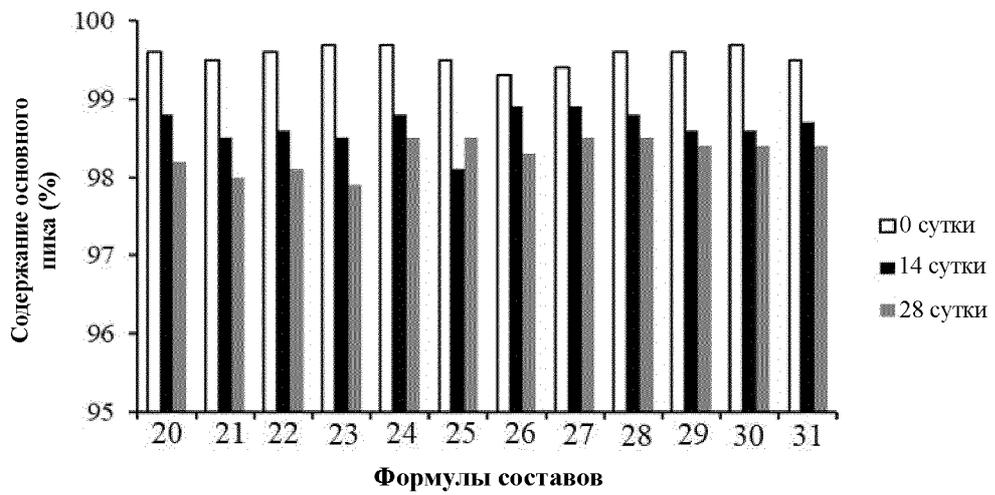
ФИГ. 6



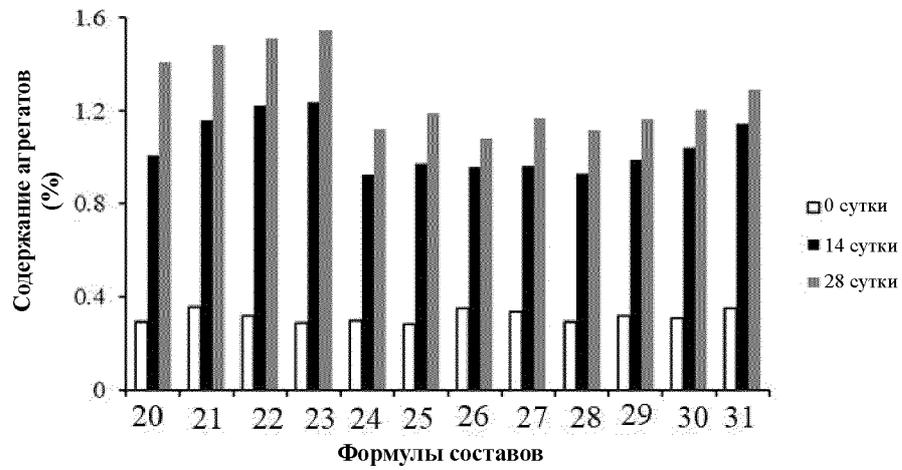
ФИГ. 7



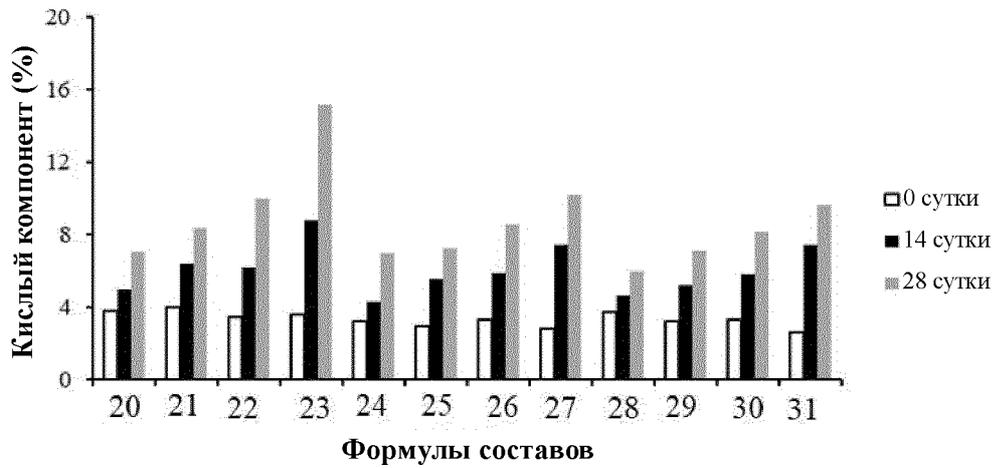
ФИГ. 8



ФИГ. 9



ФИГ. 10



ФИГ. 11