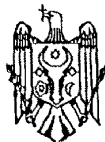




MD/EP 3370770 T2 2021.05.31

REPUBLICA MOLDOVA



(19) Agenția de Stat
pentru Proprietatea Intelectuală

(11) **MD/EP 3370770** (13) **T2**
(51) Int. Cl.: **A61K 39/395** (2006.01.01)

A61K 31/4439 (2006.01.01)
A61K 31/198 (2006.01.01)
A61K 31/573 (2006.01.01)
A61K 31/69 (2006.01.01)
C07K 16/28 (2006.01.01)
A61K 9/10 (2006.01.01)
A61K 47/12 (2006.01.01)
A61K 47/20 (2006.01.01)
A61K 47/22 (2006.01.01)
A61P 35/00 (2006.01.01)

(12) **BREVET DE INVENȚIE EUROPEAN VALIDAT**

(21) Numărul de depozit: e 2018 0897 (22) Data de depozit: 2016.11.01 (96) Numărul cererii și data de depozit a cererii de brevet european: 16862791.7, 2016.11.01 (97) Numărul de publicare și data publicării de către OEB a cererii de brevet european: 3370770, 2018.09.12 (31) Numărul cererii prioritare: 201562250016 P (32) Data de depozit a cererii prioritare: 2015.11.03 (33) Țara cererii prioritare: US	(49) Data publicării traducerii fasciculului de brevet european validat: BOPI nr. 05/2021, 2021.05.31 (80) Data publicării mențiunii acordării de către OEB: EPB nr. 03/2021, 2021.01.20 (82) Data publicării solicitării de validare a brevetului european: BOPI nr. 10/2018, 2018.10.31
(71) Solicitant: JANSSEN BIOTECH, INC., US (72) Inventatori: JANSSON Richard, US; KUMAR Vineet, US (73) Titular: JANSSEN BIOTECH INC., US (74) Mandatar autorizat: PARASCA Dumitru	

(54) **Formulări subcutanate de anticorpi anti-CD38 și utilizări ale acestora**

(57) Rezumat:

1

Prezenta invenție se referă la formulări subcutanate de anticorpi anti-CD38 și la utilizările acestora.

2

Secvențe: 22

Revendicări: 20

MD/EP 3370770 T2 2021.05.31

(54) Subcutaneous formulations of anti-cd38 antibodies and their uses**(57) Abstract:**

1
The present invention relates to
subcutaneous formulations of anti-CD38
antibodies and their uses.

2
Sequences: 22
Claims: 20

Descriere:**(Descrierea se publică în varianta redactată de solicitant)****DOMENIUL INVENȚIEI**

5 Prezenta invenție se referă la formulări subcutanate de anticorpi anti-CD38 și utilizări ale acestora.

BAZELE INVENȚIEI

10 CD38 este o proteină multifuncțională având funcție în adeziunea și semnalizarea mediate de receptor precum și în medierea mobilizării calciului prin activitatea sa ecto-enzimatică, catalizând formarea de riboză ADP ciclică (cADPR) și ADPR. Secreția de citokine mediată de CD38 și activarea și proliferarea de limfocite (Funaro și colab., J Immunol 145:2390-6, 1990; Terhorst și colab., Cell 771-80, 1981; Guse și colab., Nature 398:70-3, 1999). CD38, prin activitatea sa de glicohidrolază NAD, reglează de asemenea nivelurile extracelulare NAD⁺, care au fost implicate în modularea compartimentului regulator al celulei T (Adriouch și colab., 14:1284-92, 2012; Chiarugi și colab., Nature Reviews 12:741-52, 2012). În plus față de semnalizarea prin Ca²⁺, semnalizarea CD38 are loc prin dialog încrucișat cu complecși antigen-receptor pe celulele T și B sau alte tipuri de complecși receptori, de exemplu, molecule MHC, care implică CD38 în câteva răspunsuri celulare, dar de asemenea și în comutarea și secreția de IgG1. CD38 este exprimat pe diferite celule maligne.

20 Anticorpul anti-CD38 sunt dezvoltati pentru tratamentul mielomului multiplu și a altor malignități heme (de exemplu US 2015/0118251). Anticorpul sunt fie injectați sau fie perfuzați pe cale intravenoasă (IV). Cantitatea de anticorp care poate fi administrată pe cale intravenoasă este limitată de proprietățile fizico-chimice ale anticorpului, în special prin solubilitatea și stabilitatea lui într-o formulare lichidă adecvată și de volumul fluidului de perfuzie.

25 Prin urmare, există o necesitate pentru formulări și compoziții farmaceutice de anticorp anti-CD38 suplimentare.

REZUMATUL INVENȚIEI

30 Invenția furnizează o compoziție farmaceutică cuprinzând un anticorp anti-CD38 și o hialuronidază, în care:

- a) anticorpul cuprinde o regiune variabilă a lanțului greu (VH) din SEQ ID NO: 4 și o regiune variabilă a lanțului ușor (VL) din SEQ ID NO: 5; și
- b) compoziția cuprinde aproximativ 1.800 mg de anticorp anti-CD38 și aproximativ 30.000 U de hialuronidază.

35 Invenția furnizează de asemenea o compoziție farmaceutică cuprinzând un anticorp anti-CD38 și o hialuronidază rHuPH20 având secvența de aminoacizi din SEQ ID NO: 22, în care:

- a) anticorpul cuprinde o regiune variabilă a lanțului greu (VH) din SEQ ID NO: 4 și o regiune variabilă a lanțului ușor (VL) din SEQ ID NO: 5; și
- b) compoziția cuprinde aproximativ 1.800 mg de anticorp anti-CD38 și aproximativ 30.000 U de hialuronidază.

40 Invenția furnizează de asemenea o compoziție farmaceutică pentru utilizare într-o metodă de tratare a unui cancer la un subiect, în care metoda cuprinde administrarea compoziției farmaceutice subcutanat către subiect și în care compoziția farmaceutică cuprinde un anticorp anti-CD38 și o hialuronidază, în care:

- a) anticorpul cuprinde o regiune variabilă a lanțului greu (VH) din SEQ ID NO: 4 și o regiune variabilă a lanțului ușor (VL) din SEQ ID NO: 5; și
- b) compoziția cuprinde aproximativ 1.800 mg de anticorp anti-CD38 și aproximativ 30.000 U de hialuronidază.

45 Divulgarea furnizează de asemenea o metodă de tratare a malignității hematologice pozitive CD38, cuprinzând administrarea subcutanată la un subiect care are nevoie de această compoziție farmaceutică a invenției pentru un timp suficient pentru a trata malignitatea hematologică pozitivă CD38.

50 Divulgarea furnizează de asemenea o metodă de tratare a mielomului multiplu, cuprinzând administrarea subcutanată la un subiect care are nevoie de această compoziție farmaceutică a invenției pentru un timp suficient pentru a trata mielomul multiplu.

55 Invenția furnizează de asemenea o formă de dozare unitară, cuprinzând un anticorp anti-CD38 cuprinzând VH din SEQ ID NO: 4 și VL din SEQ ID NO: 5 într-o cantitate de aproximativ 1.800 mg;

o hialuronidază într-o cantitate de aproximativ 30.000 U;

histidină la o concentrație de la aproximativ 5 mM până la aproximativ 15 mM;

60 sorbitol la o concentrație de la aproximativ 100 mM până la aproximativ 300 mM;

PS-20 la o concentrație de la aproximativ 0,01% m/v până la aproximativ 0,04 % m/v; și metionină la o concentrație de la aproximativ 1 mg/mL până la aproximativ 2 mg/mL, la un pH de aproximativ 5,5.

- 5 Invenția furnizează de asemenea o formă de dozare unitară, cuprinzând anticorpul anti-CD38 cuprinzând VH din SEQ ID NO: 4 și VL din SEQ ID NO: 5 într-o cantitate de aproximativ 1.800 mg;
o hialuronidază într-o cantitate de aproximativ 30.000 U;
histidină la o concentrație de aproximativ 10 mM;
sorbitol la o concentrație de aproximativ 300 mM;
10 PS-20 la o concentrație de aproximativ 0,04 % m/v; și metionină la o concentrație de aproximativ 1 mg/mL, la un pH de aproximativ 5,5.

Invenția furnizează de asemenea un recipient cuprinzând forma de dozare unitară a invenției.

- 15 Divulgarea furnizează de asemenea un recipient cuprinzând compoziția farmaceutică a invenției.

DESCRIERE DETALIATĂ A INVENȚIEI

- „CD38” se referă la proteina CD38 umană (sinonime: ADP-ribozil ciclază 1, cADPr hidrolază 1, ADP-riboză hidrolază 1 ciclică). CD38 umană are o secvență de aminoacizi prezentată în GenBank cu numărul de acces NP_001766 și în SEQ ID NO: 1. Este bine cunoscut că CD38 este o proteină membranară de tip II cu o singură trecere cu reziduurile de aminoacid 1-21 reprezentând domeniul citosolic, reziduurile de aminoacid 22-42 reprezentând domeniul transmembranar, și reziduurile 43-300 reprezentând domeniul extracelular al CD38.

SEQ ID NO: 1

MANCEFSPVSGDKPCCRLSRRAQLCLGVSILVLILVVVLAVVVPRWRQQWSGPGT
TKRFPETVLARCVKYTEIHPMRHVDCQSVWDAFKGAFISKHPCNITEEDYQPLM
KLGTQTVPCNKILLWSRIKDLAQFTQVQRDMFTLEDTLGLYLAADDLTWCGEFN
TSKINYQSCPDWRKDCSNNPVSVFWKTVSRRFAEAACDVVHVMLNGSRSKIFDK
NSTFGSVEVHNLQPEKVQTLAWVIHGGREDSRDLCQDPTIKELESIIISKRNIIQFSC
KNIYRDPDKFLQCVKNPEDSSCTSEI

- 25 „Anticorpii” sunt înțeleși într-un sens larg și includ moleculele de imunoglobulină incluzând anticorpi monoclonali incluzând anticorpi murini, umani, umanizați și monoclonali himerici, fragmente de legare la antigen, anticorpi bispecifici sau multispecifici, anticorpi dimerici, tetramericici sau multimerici, anticorpi monocatenari, anticorpi de domeniu și orice altă configurație modificată de moleculă de imunoglobulină care cuprinde un situs de legare al antigenului dacă este necesară specificitatea. „Anticorpii cu lungime completă” sunt constituiți din două lanțuri grele (H) și două lanțuri ușoare (L) interconectate prin legături disulfură precum și multimeri ai acestora (de exemplu IgM). Fiecare lanț greu este format dintr-o regiune variabilă a lanțului greu (VH) și dintr-o regiune constantă a lanțului greu (formată din domeniile CH1, balama CH2 și CH3). Fiecare lanț ușor este format dintr-o regiune variabilă a lanțului ușor (VL) și o regiune constantă a lanțului ușor (CL). Regiunile VH și VL pot fi mai departe subdivizate în regiuni de hipervariabilitate, denumite regiuni determinante de complementaritate (CDR), intercalate cu regiuni cadru (FR). Fiecare VH și VL este compusă din trei regiuni CDR și patru segmente FR, dispuse de la terminalul amino la terminalul carboxi în următoarea ordine: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, și FR4.

- 40 „Regiunile determinante de complementaritate (CDR)” sunt „situri de legare la antigen” într-un anticorp. Regiunile CDR pot fi definite utilizând diferiți termeni: (i) Regiuni determinante de complementaritate (regiuni CDR), trei în VH (HCDR1, HCDR2, HCDR3) și trei în VL (LCDR1, LCDR2, LCDR3) sunt pe baza variabilității de secvență (Wu și Kabat, J Exp Med 132:211-50, 1970; Kabat și colab., Sequences of Proteins of Immunological Interest, Ed. a 5-a Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md., 1991). (ii) „Regiuni hipervariabile”, „HVR”, sau „HV”, trei în VH (H1, H2, H3) și trei în VL (L1, L2, L3) se referă la regiunile domeniilor variabile ale unui anticorp care sunt hipervariabile în structură cum s-a definit de Chotia și Lesk (Chotia și Lesk, Mol Biol 196:901-17, 1987). Baza de date internațională ImmuGeneTics (IMGT) (<http://www.imgt.org>) furnizează o numărare și definiție standardizată a situsurilor de legare la antigen. Corespondența între delimitările regiunilor CDR, HV și IMGT este descrisă în Lefranc și colab., Dev Comparat Immunol 27:55-77, 2003. Termenii „CDR”, „HCDR1”, „HCDR2”, „HCDR3”, „LCDR1”, „LCDR2” și „LCDR3” așa cum s-au utilizat în acest

document includ regiuni CDR definite prin oricare dintre metodele descrise *mai sus*, Kabat, Chotia sau IMGT, în afară de cazul când se declară explicit altfel în specificație.

Imunoglobulinele pot fi asignate la cinci clase majore, IgA, IgD, IgE, IgG și IgM, depinzând de secvența de aminoacizi a domeniului constant al lanțului greu. IgA și IgG sunt mai departe subclasificate ca izotipuri IgA₁, IgA₂, IgG₁, IgG₂, IgG₃ și IgG₄. Lanțurile ușoare ale anticorpului oricăror specii vertebrate pot fi asignate la unul din două tipuri distincte clare, și anume kappa (κ) și lambda (λ), pe baza secvențelor de aminoacizi ale domeniilor lor constante.

„Fragmentul care se leagă la antigen” se referă la o porțiune a unei molecule de imunoglobulină care reține proprietățile de legare la antigen ale anticorpului parental cu lungime completă. Exemple de fragmente de legare la antigen sunt ca regiunile determinante de complementaritate ale lanțului greu (HCDR) 1, 2 și/sau 3, regiunile determinante de complementaritate ale lanțului ușor (LCDR) 1, 2 și/sau 3, o regiune variabilă a lanțului greu (VH), sau o regiune variabilă a lanțului ușor (VL), fragmente Fab, F(ab')₂, Fd și Fv precum și anticorpi de domeniu (dAb) constând din fie un domeniu VH sau fie un domeniu VL. Domeniile VH și VL pot fi legate împreună printr-un liant sintetic pentru a forma diferite tipuri de concepții de anticorp monocatenar în care perechea de domenii VH/VL intramolecular, sau intermolecular în acele cazuri când domeniile VH și VL sunt exprimate prin catene separate, pentru a forma un situs monovalent de legare al antigenului, cum ar fi Fv monocatenar (scFv) sau diacorp; descris de exemplu în Int. Pat. Publ. nr. WO1998/44001, Int. Pat. Publ. nr. WO1988/01649; Int. Pat. Publ. nr. WO1994/13804; Int. Pat. Publ. nr. WO1992/01047.

„Anticorpul monoclonal” se referă la o populație de anticorpi cu o singură compoziție de aminoacid în fiecare lanț greu și fiecare lanț ușor, cu excepția unor posibile alterări bine cunoscute cum ar fi îndepărtarea lizinei C-terminale de lanțul greu al anticorpului. Anticorpii monoclonali se leagă de obicei la un epitop antigenic, exceptând anticorpii monoclonali multispecifici care se leagă la doi sau mai mulți antigeni sau epitopi distincți. Anticorpii monoclonali bispecifici se leagă la doi epitopi antigenici distincți. Anticorpii monoclonali pot avea glicozilare eterogenă în populația de anticorpi. Anticorpul monoclonal poate fi monospecific sau multispecific, sau monovalent, bivalent sau multivalent. Un anticorp multispecific, cum ar fi un anticorp bispecific sau un anticorp trispecific este inclus în termenul anticorp monoclonal.

„Anticorpul izolat” se referă la un anticorp sau un fragment care se leagă la antigen al acestuia care este substanțial fără alți anticorpi având diferite specificități antigenice (de exemplu, un anticorp izolat care se leagă specific la CD38 umană este substanțial fără anticorpi care se leagă specific la antigeni alții decât CD38 umană). În cazul unui anticorp bispecific, anticorpul bispecific leagă specific doi antigeni de interes, și este substanțial fără anticorpi care se leagă specific la antigeni alții decât cei doi antigeni de interes. „Anticorpul izolat” cuprinde anticorpi care sunt izolați la o puritate mai ridicată, cum ar fi anticorpii care sunt 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% sau 100% puri.

„Anticorpii umanizați” se referă la anticorpi în care situsurile de legare la antigen sunt derivate din specii neumane și cadrele regiunii variabile sunt derivate din secvențe de imunoglobulină umană. Anticorpii umanizați pot include mutații introduse intenționat în regiunile cadru astfel încât cadrul poate să nu fie o copie exactă a imunoglobulinei umane exprimate sau a secvențelor genetice inițiale.

„Anticorpii umani” se referă la anticorpi având regiunile variabile ale lanțului greu și ușor în care ambele, cadrul și situsul de legare al antigenului sunt derivate din secvențe de origine umană. Dacă anticorpul conține o regiune constantă sau o porțiune de regiune constantă, regiunea constantă este derivată de asemenea din secvențe de origine umană.

Un anticorp uman cuprinde regiunile variabile ale lanțului greu și ușor care sunt derivate din secvențe de origine umană dacă regiunile variabile ale anticorpului sunt obținute de la un sistem care utilizează imunoglobulina inițială umană sau gene de imunoglobulină rearanjate. Astfel de exemple de sisteme sunt bibliotecile de gene de imunoglobulină umană afișate pe fagi, și animalele neumane transgenice cum ar fi șoarecii sau șobolanii care poartă loci de imunoglobulină umană cum s-a descris aici. Un anticorp uman conține de obicei diferențe de aminoacid când este comparat cu secvențele de imunoglobulină inițiale umane sau rearanjate datorită, de exemplu mutațiilor somatice care apar natural, introducerii intenționate de substituții în cadrul sau situsul de legare al antigenului și modificărilor de aminoacizi introduse în timpul clonării și recombinării VDJ la animalele neumane. De obicei, un anticorp uman este cel puțin aproximativ 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% sau 100% identic în secvența de aminoacizi cu o secvență de aminoacizi codificată de o genă de imunoglobulină inițială umană sau rearanjată. În unele cazuri, un anticorp uman poate conține secvențe cadru consens derivate din analizele secvenței cadru umane, de exemplu cum s-a descris în Knappik și colab., J Mol Biol 296:57-86, 2000, sau HCDR3 sintetic incorporat în bibliotecile de

gene de imunoglobulină umană afișate pe fagi, de exemplu cum s-a descris în Shi și colab., J Mol Biol 397:385-96, 2010 și Int. Pat. Publ. nr. WO2009/085462.

Anticorpul în care situsurile de legare la antigen sunt derivate din specii neumane nu sunt incluși în definiția anticorpului uman.

5 „Recombinant” include anticorpi și alte proteine care sunt preparate, exprimate, create sau izolate prin mijloace recombinante.

„Epitop” se referă la o porțiune a unui antigen la care un anticorp se leagă specific. Epitopii constau de obicei din grupări de radicali de suprafață chimic active (cum ar fi polare, nepolare sau hidrofobe) cum ar fi catenele laterale de aminoacizi sau polizaharide și pot avea
10 caracteristici structurale tridimensionale specifice, precum și caracteristici de încărcare specifice. Un epitop poate fi compus din aminoacizi contigui și/sau discontigui care formează o unitate spațială conformațională. Pentru un epitop discontiguu, aminoacizii din diferite porțiuni de secvență liniară a antigenului vin în proximitate apropiată în spațiul tridimensional prin plierea moleculei de proteină.

15 „Multispecific” se referă la un anticorp care leagă specific cel puțin doi antigeni distincți sau doi epitopi distincți cu antigenii, de exemplu trei, patru sau cinci antigeni sau epitopi distincți.

„Bispecific” se referă la un anticorp care leagă specific doi antigeni distincți sau doi epitopi distincți cu același antigen. Anticorpul bispecific poate avea reactivitate încrucișată la alți antigeni înrudiți sau poate lega un epitop care este partajat între doi sau mai mulți antigeni
20 distincți.

„Variantă” se referă la o polipeptidă sau o polinucleotidă care diferă de o polipeptidă de referință sau de o polinucleotidă de referință prin una sau mai multe modificări de exemplu, substituții, inserții sau deleții.

25 „În combinație cu” înseamnă că doi sau mai mulți agenți terapeutici sunt administrați unui subiect împreună într-un amestec, concomitent ca agenți singuri sau secvențial ca agenți singuri în orice ordine.

„Compoziție farmaceutică” se referă la un produs care rezultă din combinarea unui anticorp anti-CD38 și a unei hialuronidaze și include ambele combinații, fixată și nefixată. Compoziția farmaceutică include de obicei un purtător acceptabil farmaceutic. „Combinațiile
30 fixate” se referă la o singură compoziție farmaceutică cuprinzând anticorpul anti-CD38 și hialuronidaza administrate simultan în forma unei singure entități sau dozaj. „Combinația nefixată” se referă la compoziții farmaceutice separate de anticorp anti-CD38 și hialuronidază sau forme de dozare unitare administrate ca entități separate fie simultan, concomitent sau secvențial fără limite specifice de intervenție în timp, în care o astfel de administrare furnizează niveluri
35 eficiente ale celor doi compuși în corpul subiectului.

„Purtător acceptabil farmaceutic” se referă la un ingredient dintr-o compoziție farmaceutică, altul decât un ingredient activ, care este netoxic la un subiect. Un purtător acceptabil farmaceutic include, dar nu este limitat la, un tampon, excipient, stabilizator, sau conservant.

40 „Tratează” sau „tratament” se referă la tratamentul terapeutic în care obiectivul este de a încetini (reduce) o modificare fiziologică nedorită sau boală, cum ar fi dezvoltarea sau împrăștierea tumorii sau a celulelor tumorale, sau de a furniza un rezultat clinic benefic sau dorit în timpul tratamentului. Rezultatul clinic benefic sau dorit include ameliorarea simptomelor, diminuarea extensiei bolii, stabilizarea (adică, neînăutățirea) stării bolii, întârzierea sau încetinirea progresului bolii, lipsa metastazei, ameliorarea sau alinarea stării bolii, și remisia (indiferent dacă este parțială sau totală), indiferent dacă este detectabilă sau nedetectabilă. „Tratamentul” poate
45 însemna de asemenea prelungirea supraviețuirii în comparație cu supraviețuirea așteptată dacă un subiect nu a primit tratament. Cei care au nevoie de tratament includ acei subiecți care au deja modificări fiziologice nedorite sau boală precum și acei subiecți predispuși a avea modificarea fiziologică sau boala.

50 „Cantitate eficientă terapeutică” se referă la o cantitate eficientă, la dozaje și pe perioadele de timp necesare, pentru a obține rezultatul terapeutic dorit. O cantitate eficientă terapeutică poate varia în conformitate cu factori cum ar fi starea de boală, vârsta, sexul, și greutatea individului, și abilitatea unui agent terapeutic sau a unei combinații de agenți terapeutici de a declanșa un răspuns dorit la individ. Exemple de indicatori ai unui agent terapeutic eficient sau a unei combinații de
55 agenți terapeutici includ, de exemplu, starea de bine îmbunătățită a pacientului, reducerea încărcării tumorale, oprirea sau încetinirea creșterii unei tumori, și/sau absența metastazei celulelor canceroase la alte locații în corp.

60 „Inhibarea creșterii” (de exemplu se referă la celule tumorale) se referă la o scădere măsurabilă în creșterea celulei tumorale sau a țesutului tumoral *in vitro* sau *in vivo* când sunt puse în contact cu un agent terapeutic sau cu o combinație de agenți terapeutici sau medicamente, în comparație cu creșterea acelorași celule tumorale sau țesut tumoral în absența agentului terapeutic

sau a combinației de medicamente terapeutice. Inhibarea creșterii unei celule tumorale sau țesut tumoral *in vitro* sau *in vivo* poate fi de cel puțin aproximativ 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 99%, sau 100%.

„Malignitatea hematologică pozitivă CD38” se referă la o malignitate hematologică caracterizată prin prezența celulelor tumorale care exprimă CD38 incluzând leucemii, limfoame și mielom. Exemple de astfel de malignități hematologice pozitive CD38 includ leucemia/limfomul limfoblastic cu precursor de celule B și limfomul cu celule B non-Hodgkin, leucemia promielocitară acută, leucemia limfoblastică acută și neoplasme cu celule B mature, cum ar fi leucemia cu celule B limfocitară cronică (CLL)/limfocitară mică

limfomul (SLL), leucemia cu celule B limfocitară acută, leucemia cu celule B prolimfocitară, limfomul limfoplasmatic, limfomul cu celule de manta (MCL), limfomul folicular (FL), incluzând de grad scăzut, de grad intermediar și de grad ridicat FL, limfomul cutanat de centru folicular, limfomul zonei marginale cu celule B (tip MALT, tip nodal și splenic), leucemia cu celule păroase, limfomul difuz cu celule B mari (DLBCL), limfomul Burkitt (BL), plasmacitomul, mielomul multiplu, leucemia plasmei celulare, tulburarea limfoproliferativă post-transplant, amiloidozele lanțului ușor, macroglobulinemie Waldenstrom, leucemiile plasmei celulare și limfomul anaplastic cu celule mari (ALCL).

„Aproximativ” înseamnă, cu un interval de eroare acceptabil pentru valoarea particulară după cum s-a determinat de către cineva având calificare obișnuită în domeniu, că va depinde parțial de cum este măsurată sau determinată valoarea, adică, limitările sistemului de măsurare. În afară de cazul când se declară explicit altfel în exemple sau în altă parte din specificație în contextul a unui test particular, rezultat sau realizare, „aproximativ” înseamnă într-o deviație standard pe practica în domeniu, sau un interval de până la 5%, oricare este mai mare.

Compoziții farmaceutice

Invenția furnizează o compoziție farmaceutică cuprinzând un anticorp anti-CD38 și o hialuronidază, în care:

a) anticorpul cuprinde o regiune variabilă a lanțului greu (VH) din SEQ ID NO: 4 și o regiune variabilă a lanțului ușor (VL) din SEQ ID NO: 5; și

b) compoziția cuprinde aproximativ 1.800 mg de anticorp anti-CD38 și aproximativ 30.000 U de hialuronidază.

Hialuronidaza este o enzimă care degradează acidul hialuronic (EC 3,2,1,35) și scade vâscozitatea hialuronanului în matricea extracelulară, crescând prin urmare permeabilitatea țesutului. Activitatea enzimatică a hialuronidazei, incluzând rHuPH20, poate fi definită de unități pe mL (U/mL) sau de activitatea totală a enzimei într-o formulare particulară (U) cum este explicat mai departe mai jos.

rHuPH20 este o hialuronidază recombinantă (HYLENEX® recombinant) și este descrisă în Int. Pat. Publ. nr. WO2004/078140.

Definiția standard pentru o unitate (U) de activitate enzimatică este cantitatea de enzimă care catalizează reacția unei cantități de substrat definite în unitatea de timp, cum ar fi un μmol sau un nmol de substrat pe minut. Tehnicile pentru determinarea activității de preparări de hialuronidază sunt cunoscute în domeniu și activitatea preparărilor de hialuronidază este exprimată de obicei fie ca unități USP sau Unități (în continuare în acest document „Unități”). Un exemplu de metodă pentru determinarea activității poate fi găsită în Brevetul din Statele Unite nr. 7.767.429.

Activitatea hialuronidazei se referă la abilitatea de a cataliza enzimatic clivarea acidului hialuronic. Farmacopeia din Statele Unite (USP) XXII furnizează un test pentru hialuronidază unde activitatea hialuronidazei este indirect determinată prin măsurarea cantității de acid hialuronic cu masă moleculară mai ridicată, sau hialuronan, substratul (HA) rămas după enzimă este lăsat să reacționeze cu HA timp de 30 min la 37°C. (USP XXII-NF XVII (1990) 644-645 United States Pharmacopeia Convention, Inc, Rockville, Md.). O soluție standard de referință poate fi utilizată într-un test pentru a constata activitatea relativă, în Unități, a oricărei hialuronidaze. Testele *in vitro* pentru a determina activitatea hialuronidază a hialuronidazelor, cum ar fi rHuPH20 solubile, sunt cunoscute în domeniu și descrise aici. Exemple de test includ testul de microturbiditate descris mai jos (vezi de exemplu Exemplul 3) care măsoară clivarea de acid hialuronic prin hialuronidază indirectă prin detectarea precipitatului insolubil format când acidul hialuronic neclivat se leagă cu albumina din ser. Pot fi utilizate standarde de referință, de exemplu, pentru a genera o curbă standard pentru a determina activitatea în Unități de hialuronidază care sunt testate.

Compoziția farmaceutică este utilă pentru administrarea subcutanată a anticorpului anti-CD38 la un subiect care are nevoie de terapie cu anticorp anti-CD38, cum ar fi un subiect având un cancer, de exemplu o malignitate hematologică pozitivă CD38. Fără a se dori a fi legată de orice

teorie particulară, administrarea subcutanată a anticorpului anti-CD38 poate avea o reacție redusă legată de infuzie și obținerea ratelor de răspuns îmbunătățite când sunt comparate cu administrarea intravenoasă a anticorpului anti-CD38.

- În unele realizări, compoziția farmaceutică este o combinație fixată.
- 5 În unele realizări, compoziția farmaceutică este o combinație nefixată.
- În unele realizări, compoziția farmaceutică cuprinde de la aproximativ 1 mg/mL până la aproximativ 180 mg/mL de anticorp anti-CD38.
- În unele realizări, compoziția farmaceutică cuprinde de la aproximativ 10 mg/mL până la aproximativ 180 mg/mL de anticorp anti-CD38.
- 10 În unele realizări, compoziția farmaceutică cuprinde de la aproximativ 20 mg/mL până la aproximativ 160 mg/mL de anticorp anti-CD38.
- În unele realizări, compoziția farmaceutică cuprinde de la aproximativ 20 mg/mL până la aproximativ 140 mg/mL de anticorp anti-CD38.
- În unele realizări, compoziția farmaceutică cuprinde de la aproximativ 20 mg/mL până la aproximativ 120 mg/mL de anticorp anti-CD38.
- 15 În unele realizări, compoziția farmaceutică cuprinde de la aproximativ 40 mg/mL până la aproximativ 120 mg/mL de anticorp anti-CD38.
- În unele realizări, compoziția farmaceutică cuprinde de la aproximativ 60 mg/mL până la aproximativ 120 mg/mL de anticorp anti-CD38.
- 20 În unele realizări, compoziția farmaceutică cuprinde de la aproximativ 80 mg/mL până la aproximativ 120 mg/mL de anticorp anti-CD38.
- În unele realizări, compoziția farmaceutică cuprinde de la aproximativ 100 mg/mL până la aproximativ 120 mg/mL de anticorp anti-CD38.
- În unele realizări, compoziția farmaceutică cuprinde aproximativ 1 mg/mL, aproximativ 5 mg/mL, aproximativ 10 mg/mL, aproximativ 15 mg/mL, aproximativ 20 mg/mL, aproximativ 30 mg/mL, aproximativ 40 mg/mL, aproximativ 50 mg/mL, aproximativ 60 mg/mL, aproximativ 70 mg/mL, aproximativ 80 mg/mL, aproximativ 90 mg/mL, aproximativ 100 mg/mL, aproximativ 110 mg/mL, aproximativ 120 mg/mL, aproximativ 130 mg/mL, aproximativ 140 mg/mL, aproximativ 150 mg/mL, aproximativ 160 mg/mL, aproximativ 170 mg/mL sau aproximativ 180 mg/mL de anticorp anti-CD38.
- 30 În unele realizări, compoziția farmaceutică cuprinde aproximativ 20 mg/mL de anticorp anti-CD38.
- În unele realizări, compoziția farmaceutică cuprinde aproximativ 100 mg/mL de anticorp anti-CD38.
- 35 În unele realizări, compoziția farmaceutică cuprinde aproximativ 120 mg/mL de anticorp anti-CD38.
- În unele realizări, compoziția farmaceutică cuprinde de la aproximativ 50 U/mL până la aproximativ 5.000 U/mL de hialuronidază.
- În unele realizări, compoziția farmaceutică cuprinde de la aproximativ 500 U/mL până la aproximativ 5.000 U/mL de hialuronidază.
- 40 În unele realizări, compoziția farmaceutică cuprinde de la aproximativ 1.000 U/mL până la aproximativ 5.000 U/mL de hialuronidază.
- În unele realizări, compoziția farmaceutică cuprinde de la aproximativ 2.000 U/mL până la aproximativ 5.000 U/mL de hialuronidază.
- 45 În unele realizări, compoziția farmaceutică cuprinde de la aproximativ 50 U/mL până la aproximativ 2.000 U/mL de hialuronidază.
- În unele realizări, compoziția farmaceutică cuprinde de la aproximativ 500 U/mL până la aproximativ 2.000 U/mL de hialuronidază.
- În unele realizări, compoziția farmaceutică cuprinde de la aproximativ 1.000 U/mL până la aproximativ 2.000 U/mL de hialuronidază.
- 50 În unele realizări, compoziția farmaceutică cuprinde aproximativ 500 U/mL, aproximativ 600 U/mL, aproximativ 700 U/mL, aproximativ 800 U/mL, aproximativ 900 U/mL, aproximativ 1.000 U/mL, aproximativ 1.100 U/mL, aproximativ 1.200 U/mL, aproximativ 1.300 U/mL, aproximativ 1.400 U/mL, aproximativ 1.500 U/mL, aproximativ 1.600 U/mL, aproximativ 1.700 U/mL, aproximativ 1.800 U/mL, aproximativ 1.900 U/mL, aproximativ 2.000 U/mL, aproximativ 2.100 U/mL, aproximativ 2.200 U/mL, aproximativ 2.300 U/mL, aproximativ 2.400 U/mL, aproximativ 2.500 U/mL, aproximativ 2.600 U/mL, aproximativ 2.700 U/mL, aproximativ 2.800 U/mL, aproximativ 2.900 U/mL, aproximativ 3.000 U/mL, aproximativ 3.100 U/mL, aproximativ 3.200 U/mL, aproximativ 3.300 U/mL, aproximativ 3.400 U/mL, aproximativ 3.500 U/mL, aproximativ 3.600 U/mL, aproximativ 3.700 U/mL, aproximativ 3.800 U/mL, aproximativ 3.900 U/mL, aproximativ 4.000 U/mL, aproximativ 4.100 U/mL, aproximativ 4.200 U/mL, aproximativ

4.300 U/mL, aproximativ 4.400 U/mL, aproximativ 4.500 U/mL, aproximativ 4.600 U/mL, aproximativ 4.700 U/mL, aproximativ 4.800 U/mL, aproximativ 4.900 U/mL sau aproximativ 5.000 U/mL de hialuronidază.

5 În unele realizări, compoziția farmaceutică cuprinde aproximativ 500 U/mL de hialuronidază.

În unele realizări, compoziția farmaceutică cuprinde aproximativ 2.000 U/mL de hialuronidază.

În unele realizări, compoziția farmaceutică cuprinde aproximativ 5,000 U/mL de hialuronidază.

10 În unele realizări, hialuronidaza este rHuPH20 având secvența de aminoacizi din SEQ ID NO: 22.

Anticorpul anti-CD38 în compoziția farmaceutică cuprinde VH din SEQ ID NO: 4 și VL din SEQ ID NO: 5.

15 În unele realizări, anticorpul anti-CD38 în compoziția farmaceutică cuprinde un lanț greu din SEQ ID NO: 12 și un lanț ușor din SEQ ID NO: 13.

SEQ ID NO: 2

SKRNIQFSCKNYR

SEQ ID NO: 3

EKVQTLEAWVIHGG

SEQ ID NO: 4

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFTFNSFAMSWVRQAPGKGLEWVSA

ISGSGGGTTYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYFCAKDK

20 ILWFGEPVFDYWGQGLTVTVSS

SEQ ID NO: 5

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLIYD

ASN RATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSELPEDFAVYYCQQRSNWPPTFGQ

GTKVEIK

SEQ ID NO: 6

SFAMS

25 SEQ ID NO: 7

AISGSGGGTTYADSVKG

SEQ ID NO: 8

DKILWFGEPVFDY

SEQ ID NO: 9

30 RASQSVSSYLA

SEQ ID NO: 10

DASNRAT

SEQ ID NO: 11

QQRSNWPPTF

35 SEQ ID NO: 12

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFTFNSFAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSG

GGTTYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYFCAKDKILWFGEPVF

DYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN

SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRV

EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPE

VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV

NKALPAIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE

WESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHN

HYTQKSLSLSPGK

SEQ ID NO: 13

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRAT
GIPARFSGSGSGTDFTLTISSELPEDFAVYYCQQRSNWPPTFGQGTKVEIKRTVAAP
SVFIFFPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDS
KDSTYSLSSLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

Alte exemple de anticorpi anti-CD38 care pot fi utilizați în compozițiile farmaceutice și metode sunt:

- 5 mAb003 cuprinzand secvențele VH și VL din SEQ ID NO: 14 și 15, respectiv și descrise in Brevetul S.U.A. nr. 7.829.693. VH și VL ale mAb003 pot fi exprimate ca IgG1/κ;
mAb024 cuprinzand secvențele VH și VL din SEQ ID NO: 16 și 17, respectiv, descrise in Brevetul S.U.A. nr. 7.829.693. VH și VL ale mAb024 pot fi exprimate ca IgG1/κ;
MOR-202 (MOR-03087) cuprinzand secvențele VH și VL din SEQ ID NO: 18 și 19, respectiv,
10 descrise in brevetul US. nr. 8.088.896. VH și VL ale MOR-202 pot fi exprimate ca IgG1/κ; sau
Izatuximab; cuprinzand secvențele VH și VL din SEQ ID NO: 20 și 21, respectiv, descrise in Brevetul S.U.A. nr. 8.153.765. VH și VL de Izatuximab pot fi exprimate ca IgG1/κ.
SEQ ID NO: 14

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCASGGTFSSYAFSWVRQAPGQGLEWMGRVIPF
LGIANSAQKFQGRVTITADKSTSTAYMDLSSLRSEDVAVYYCARDIAALGPFDDY
15 WGQGTLLVTVSSAS

SEQ ID NO: 15

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISSWLAWYQQKPEKAPKSLIYAASSLQS
GVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQYNSYPRTFGQGTKVEIK

SEQ ID NO: 16

EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFSNYWIGWVRQMPGKGLEWMGIIYPH
DSDARYSPSFQGVTFSAADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARHVGWGSRYW
YFDLWGRGTLTVTVSS
20

SEQ ID NO: 17

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPGLLIYDASNRAS
GIPARFSGSGSGTDFTLTISSELPEDFAVYYCQQRSNWPLTFGGGTKVEIK

SEQ ID NO: 18

QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYYMNWVRQAPGKGLEWVSGISGD
PSNTYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDLPLVYTGFA
YWGQGTLLVTVSS

SEQ ID NO: 19

DIELTQPPSVSVAPGQTARISCSGDNLRHYYVYWYQQKPGQAPVLVIYGDSKRPS
25 GIPERFSGSNSGNTATLTISGTQAEDEADYYCQTYTGGASLVFGGGTKLTVLGQ

SEQ ID NO 20:

QVQLVQSGAEVAKPGTSVKLSCKASGYTFTDYWMQWVKQRPGQGLEWIGT
IYPGDGDTGYAQKFQGKATLTADKSSKTVYMHLSLASEDSAVYYCARGD
YYGSNSLDYWGQGTSTVTVSS

SEQ ID NO: 21:

DIVMTQSHLSMSTSLGDPVSITCKASQDVSTVVAWYQQKPGQSPRRLIYS

ASYRYIGVPDRFTGSGAGTDFTFITISSVQAEDLAVYYCQQHYSPPYTFGG

GTKLEIK

Alte exemple de anticorpi anti-CD38 care pot fi utilizați în compozițiile farmaceutice sunt cele descrise în Int. Pat. Publ. nr. WO05/103083, Intl. Pat. Publ. nr. WO06/125640, Intl. Pat. Publ. nr. WO07/042309, Intl. Pat. Publ. nr. WO08/047242 sau Intl. Pat. Publ. nr. WO14/178820.

Un exemplu de anticorp anti-CD38 care poate fi utilizat în compozițiile farmaceutice ale invenției este daratumumab. Daratumumab cuprinde regiunea variabilă a lanțului greu (VH) și regiunea variabilă a lanțului ușor (VL) secvențele de aminoacizi prezentate în SEQ ID NO: 4 și 5, respectiv, HCDR1, HCDR2 și HCDR3 din SEQ ID NO: 6, 7 și 8, respectiv, LCDR1, LCDR2 și LCDR3 din SEQ ID NO: 9, 10 și 11, respectiv, și este de subtip IgG1/κ și descrise în Brevetul S.U.A. nr. 7.829.693. Secvența de aminoacizi a lanțului greu de daratumumab este prezentată în SEQ ID NO: 12 și secvența de aminoacizi a lanțului ușor este prezentată în SEQ ID NO: 13.

Divulgarea furnizează de asemenea o compoziție farmaceutică cuprinzând un anticorp anti-CD38 cuprinzând VH din SEQ ID NO: 4 și VL din SEQ ID NO: 5 și o hialuronidază rHuPH20 din SEQ ID NO: 22, în care concentrația de anticorp anti-CD38 în compoziția farmaceutică este de aproximativ 20 mg/mL.

Divulgarea furnizează de asemenea o compoziție farmaceutică cuprinzând un anticorp anti-CD38 cuprinzând HCDR1, HCDR2 și HCDR3 din SEQ ID NO: 6, 7 și 8, respectiv, și LCDR1, LCDR2 și LCDR3 din SEQ ID NO: 9, 10 și 11, respectiv și hialuronidaza rHuPH20 din SEQ ID NO: 22, în care concentrația de anticorp anti-CD38 în compoziția farmaceutică este de aproximativ 20 mg/mL.

Divulgarea furnizează de asemenea o compoziție farmaceutică cuprinzând între aproximativ 1.200 mg - 1.800 mg de anticorp anti-CD38 cuprinzând VH din SEQ ID NO: 4 și VL din SEQ ID NO: 5, și între aproximativ 30.000 U - 45.000 U de hialuronidază rHuPH20 din SEQ ID NO: 22, în care concentrația de anticorp anti-CD38 în compoziția farmaceutică este de aproximativ 20 mg/mL.

Invenția furnizează de asemenea o compoziție farmaceutică cuprinzând aproximativ 1.800 mg de anticorp anti-CD38 cuprinzând VH din SEQ ID NO: 4 și VL din SEQ ID NO: 5, și aproximativ 30.000 U de hialuronidază rHuPH20 din SEQ ID NO: 22, în care concentrația de anticorp anti-CD38 în compoziția farmaceutică este de aproximativ 20 mg/mL.

Divulgarea furnizează de asemenea o compoziție farmaceutică cuprinzând aproximativ 1.800 mg de anticorp anti-CD38 cuprinzând VH din SEQ ID NO: 4 și VL din SEQ ID NO: 5, și aproximativ 45.000 U de hialuronidază rHuPH20 din SEQ ID NO: 22, în care concentrația de anticorp anti-CD38 în compoziția farmaceutică este de aproximativ 20 mg/mL.

Divulgarea furnizează de asemenea o compoziție farmaceutică cuprinzând aproximativ 1.600 mg de anticorp anti-CD38 cuprinzând VH din SEQ ID NO: 4 și VL din SEQ ID NO: 5, și aproximativ 30.000 U de hialuronidază rHuPH20 din SEQ ID NO: 22, în care concentrația de anticorp anti-CD38 în compoziția farmaceutică este de aproximativ 20 mg/mL.

Divulgarea furnizează de asemenea o compoziție farmaceutică cuprinzând aproximativ 1.600 mg de anticorp anti-CD38 cuprinzând VH din SEQ ID NO: 4 și VL din SEQ ID NO: 5, și aproximativ 45.000 U de hialuronidază rHuPH20 din SEQ ID NO: 22, în care concentrația de anticorp anti-CD38 în compoziția farmaceutică este de aproximativ 20 mg/mL.

Divulgarea furnizează de asemenea o compoziție farmaceutică cuprinzând aproximativ 1.200 mg de anticorp anti-CD38 cuprinzând VH din SEQ ID NO: 4 și VL din SEQ ID NO: 5, și aproximativ 30.000 U de hialuronidază rHuPH20 din SEQ ID NO: 22, în care concentrația de anticorp anti-CD38 în compoziția farmaceutică este de aproximativ 20 mg/mL.

Divulgarea furnizează de asemenea o compoziție farmaceutică cuprinzând aproximativ 1.200 mg de anticorp anti-CD38 cuprinzând VH din SEQ ID NO: 4 și VL din SEQ ID NO: 5, și aproximativ 45.000 U de hialuronidază rHuPH20 din SEQ ID NO: 22, în care concentrația de anticorp anti-CD38 în compoziția farmaceutică este de aproximativ 20 mg/mL.

SEQ ID NO: 22

MGVLKFKHIFRSFVKSSGVSQIVFTFLIPCCLTNFRAPPVIPNVPFLWAWNAPS

EFCLGKFDEPLDMSLFSFIGSPRINATGQGVTFYVDRLGYYPYIDSITGVTVNGGIP

QKISLQDHLDKAKKDITFYMPVDNLGMAVIDWEEWRPTWARNWKPKDVYKNRS

IELVQQQNVQLSLTEATEKAKQEFKAGKDFLVETIKLGKLLRPNHLWGYYLFPD

CYNHHYKKPGYNGSCFNVEIKRNDLSWLWNESTALYPSIYLNTQQSPVAATLY
 VRNRVREAIRVSKIPDAKSPLPVFAYTRIVFTDQVLKFLSQDELVYTFGETVALGA
 SGIVIWGTLSIMRSMKSCLLLDNYMETILNPYIINVTLAAKMCSQVLCQEQQVCIR
 KWNSSDYLHLNPDNFAIQLEKGGKFTVRGKPTLEDLEQFSEKFCYSCYSTLSCK
 EKADVKTDAVDVCIADGVCIDAFKPPMETEEPQIFYNASPSTLSATMFIVSILFLI
 ISSVASL

Anticorpul anti-CD38 utilizat în compozițiile farmaceutice ale invenției, pot fi de asemenea selectați *de novo* din, de exemplu, o bibliotecă de afişare pe bacteriofagi, unde fagul este modificat genetic pentru a exprima imunoglobulinele umane sau porțiuni ale acestora cum ar fi Fab-urile, anticorpii monocatenari (scFv), sau regiunile variabile neimperecheate sau imperecheate ale anticorpilor (Knappik și colab., J Mol Biol 296:57-86, 2000; Krebs și colab., J Immunol Meth 254:67-84, 2001; Vaughan și colab., Nature Biotechnology 14:309-314, 1996; Sheets și colab., PITAS (SUA) 95:6157-6162, 1998; Hoogenboom și Winter, J Mol Biol 227:381, 1991; Marks și colab., J Mol Biol 222:581, 1991). Domeniile variabile de legare CD38 pot fi izolate din de exemplu, afişare pe biblioteci de bacteriofagi care exprimă regiunile variabile ale lanțului greu și ușor ale anticorpului ca proteine de fuziune cu bacteriofagul pIX de acoperire a proteinei cum s-a descris în Shi și colab., J. Mol. Biol. 397:385-96, 2010 și Intl. Pat. Publ. nr. WO09/085462). Bibliotecile de anticorpi pot fi analizate pentru legarea la domeniul extracelular CD38 uman, clonele pozitive obținute fiind caracterizate în plus, Fab-urile izolate din clonele lizate, și clonate ulterior ca anticorp cu lungime completă. Astfel de metode de afişare pe bacteriofagi pentru izolarea anticorpilor umani sunt stabilite în domeniu. Vezi de exemplu: Brevetul S.U.A. nr. 5.223.409, Brevetul S.U.A. nr. 5.403.484, Brevetul S.U.A. nr. 5.571.698, Brevetul S.U.A. nr. 5.427.908, Brevetul S.U.A. nr. 5.580.717, Brevetul S.U.A. nr. 5.969.108, Brevetul S.U.A. nr. 6.172.197, Brevetul S.U.A. nr. 5.885.793, Brevetul S.U.A. nr. 6.521.404, Brevetul S.U.A. nr. 6.544.731, Brevetul S.U.A. nr. 6.555.313, Brevetul S.U.A. nr. 6.582.915, și Brevetul S.U.A. nr. 6.593.081.

Anticorpul pot fi evaluați pentru competiția lor cu un anticorp de referință cum ar fi anticorpul anti-CD38 cuprinzând VH din SEQ ID NO: 4 și VL din SEQ ID NO: 5 pentru legare la CD38 utilizând metodele cunoscute *in vitro*. Într-un exemplu de metodă, celulele CHO care exprimă recombinant CD38 pot fi incubate cu un anticorp de referință neetichetat timp de 15 min la 4°C, urmate de incubarea cu un exces de anticorp de test marcat fluorescent timp de 45 min la 4°C. După spălarea în PBS/BSA, fluorescența poate fi măsurată prin citometrie de flux utilizând metode standard. Într-un alt exemplu de metodă, porțiunea extracelulară de CD38 uman poate fi acoperită pe suprafața unei plăci ELISA. Excesul de anticorp de referință neetichetat poate fi adăugat timp de aproximativ 15 minute și ulterior pot fi adăugați anticorpii de test biotinilați. După spălări în PBS/Tween, legarea anticorpului biotinilat poate fi detectată utilizând streptavidina conjugată cu peroxidaza din hrean (HRP) și semnalul detectat utilizând metode standard. Este cu ușurință evident că în testele de competiție, anticorpul de referință poate fi etichetat și anticorpul de test neetichetat. Anticorpul de test concurează cu anticorpul de referință când anticorpul de referință inhibă legarea anticorpului de test, sau anticorpul de test inhibă legarea anticorpului de referință cu cel puțin 80%, de exemplu 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% sau 100%. Epitopul anticorpului de test poate fi definit suplimentar, de exemplu prin maparea peptidei sau testele de protecție hidrogen/deuteriu utilizând metode cunoscute, sau prin determinarea structurii cristaline.

Legarea anticorpilor la regiunea SKRNIQFSCKNYR (SEQ ID NO: 2) și regiunea EKVQTLEAWVIHGG (SEQ ID NO: 3) a CD38 uman (SEQ ID NO: 1) poate fi generată de exemplu prin imunizarea șoarecilor cu peptide având secvențele de aminoacizi prezentate în SEQ ID NO: 2 și 3 utilizând metode standard și cele descrise aici, și care caracterizează anticorpii obținuți pentru legarea la peptide utilizând de exemplu ELISA sau studii de mutageneză.

Divulgarea furnizează de asemenea o compoziție farmaceutică cuprinzând un anticorp anti-CD38 cuprinzând secvențele HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2, și LCDR3 de:

- a. VH din SEQ ID NO: 14 și VL din SEQ ID NO: 15;
- b. VH din SEQ ID NO: 16 și VL din SEQ ID NO: 17;
- 50 c. VH din SEQ ID NO: 18 și VL din SEQ ID NO: 19; sau
- d. VH din SEQ ID NO: 20 și VL din SEQ ID NO: 21, și hialuronidaza rHuPH20 din SEQ ID NO: 22.

Divulgarea furnizează de asemenea o compoziție farmaceutică cuprinzând un anticorp anti-CD38 cuprinzând

- a. VH din SEQ ID NO: 14 și VL din SEQ ID NO: 15;
- b. VH din SEQ ID NO: 16 și VL din SEQ ID NO: 17;
- 5 c. VH din SEQ ID NO: 18 și VL din SEQ ID NO: 19; sau
- d. VH din SEQ ID NO: 20 și VL din SEQ ID NO: 21, și hialuronidaza rHuPH20 din SEQ ID NO: 22.

Compozițiile farmaceutice ale invenției cuprind suplimentar un purtător acceptabil farmaceutic. Exemple de purtători acceptabili farmaceutici sunt solvenții, mediile de dispersie, acoperirile, agenții antibacterieni și antifungici, agenții izotonici și pentru întârzierea absorbției, și altele asemenea care sunt fiziologic compatibile, cum ar fi sărurile, tamponurile, antioxidanții, zaharidele, purtătorii apoși sau neapoși, conservanții, agenții de umectare, surfactanții sau agenții de emulsionare, sau combinații ale acestora.

Exemple de tamponuri care pot fi utilizate sunt acidul acetic, acidul citric, acidul formic, acidul succinic, acidul fosforic, acidul carbonic, acidul malic, acidul aspartic, histidina, acidul boric, tamponurile Tris, HEPPSO și HEPES.

Exemple de antioxidanți care pot fi utilizați sunt acidul ascorbic, metionina, clorhidratul de cisteină, bisulfatul de sodiu, metabisulfatul de sodiu, sulfitul de sodiu, lecitina, acidul citric, acidul etilendiaminotetraacetic (EDTA), sorbitolul și acidul tartric.

Exemple de aminoacizi care pot fi utilizați sunt histidina, izoleucina, metionina, glicina, arginina, lizina, L-leucina, tri-leucina, alanina, acidul glutamic, L-treonina, și 2-fenilamina.

Exemple de surfactanți care pot fi utilizați sunt polisorbati (de exemplu, polisorbit-20 sau polisorbit-80); polioxamerii (de exemplu, poloxamer 188); Triton; sodiu octil glicozidă; lauril-, miristil-, linoleil-, sau stearyl-sulfobetaină; lauril-, miristil-, linoleil- sau stearyl-sarcozină; linoleil-, miristil-, sau cetil-betaină; lauroamidopropil-, cocamidopropil-, linoleamidopropil-, miristamidopropil-, palmidopropil-, sau isostearamidopropil-betaină (de exemplu, lauroamidopropil); miristamidopropil-, palmidopropil-, sau izostearamidopropil-dimetilamină; sodiu metil cocoil-, sau disodiu metil oleil-taurat; și seriile MONAQUA™ (Mona Industrii, Inc., Paterson, N.J.), polietil glicol, polipropil glicol, și copolimeri de etilen și propilen glicol (de exemplu, PLURONICS™, PF68, etc).

Exemple de conservanți care pot fi utilizați sunt fenol, m-cresol, p-cresol, o-cresol, clorocresol, alcool benzilic, nitrit fenilmercuric, fenoxietanol, formaldehidă, clorobutanol, clorură de magneziu, alchilparaben (metil, etil, propil, butil și altele asemenea), clorură de benzoniu, clorură de benetoniu, dehidroacetat de sodiu și timerosal, sau amestecuri ale acestora.

Exemple de zaharide care pot fi utilizate sunt monozaharide, dizaharide, trizaharide, polizaharide, alcooli din zahar, zaharuri de reducere, zaharuri de nereducere cum ar fi glucoză, zaharoză, trehaloză, lactoză, fructoză, maltoză, dextran, glicerină, dextran, eritritol, glicerol, arabitol, silitol, sorbitol, manitol, melibioză, melezitoză, rafinoză, manotrioză, stacioză, maltoză, lactuloză, maltuloză, glucitol, maltitol, lactitol sau izo-maltuloză.

Exemple de săruri care pot fi utilizate sunt sărurile de adiție cu acid și sărurile de adiție ale unei baze. Sărurile de adiție cu acid le include pe cele derivate din acizi anorganici netoxici, cum ar fi clorhidric, nitric, fosforic, sulfuric, bromhidric, hidroiodic, fosfor și altele asemenea, precum și din acizi organici netoxici cum ar fi acizi alifatici mono și dicarboxilici, acizi alcanici fenil-substituiți, acizi alcanici hidroxi, acizi aromatici, acizi alifatici și sulfonic aromatici și altele asemenea. Sărurile de adiție ale unei baze le includ pe cele derivate din metale alcaline pământose, cum ar fi sodiu, potasiu, magneziu, calciu și altele asemenea, precum și din amine organice netoxice, cum ar fi N,N'-dibenziletildiamină, N-metilglucamină, cloroprocaină, colină, dietanolamină, etilendiamină, procaină și altele asemenea. Un exemplu de sare este clorura de sodiu.

Cantitățile de purtător acceptabil farmaceutic în compozițiile farmaceutice pot fi determinate experimental pe baza activităților purtătorului și caracteristicilor dorite ale formulării, cum ar fi stabilitatea și/sau oxidarea minimă.

În unele realizări, compoziția farmaceutică cuprinde acid acetic.

În unele realizări, compoziția farmaceutică cuprinde acid acetic la o concentrație de la aproximativ 1 mM până la aproximativ 50 mM.

În unele realizări, compoziția farmaceutică cuprinde acid acetic la o concentrație de la aproximativ 10 mM până la aproximativ 40 mM.

În unele realizări, compoziția farmaceutică cuprinde acid acetic la o concentrație de aproximativ 10 mM, aproximativ 15 mM, aproximativ 20 mM, aproximativ 25 mM, aproximativ 30 mM, aproximativ 35 mM, aproximativ 40 mM, aproximativ 45 mM sau aproximativ 50 mM.

În unele realizări, compoziția farmaceutică cuprinde acid acetic la o concentrație de aproximativ 25 mM.

În unele realizări, compoziția farmaceutică cuprinde clorură de sodiu (NaCl).

5 În unele realizări, compoziția farmaceutică cuprinde NaCl la o concentrație de la aproximativ 20 mM până la aproximativ 100 mM.

În unele realizări, compoziția farmaceutică cuprinde NaCl la o concentrație de la aproximativ 40 mM până la aproximativ 80 mM.

10 În unele realizări, compoziția farmaceutică cuprinde NaCl la o concentrație de aproximativ 20 mM, aproximativ 25 mM, aproximativ 30 mM, aproximativ 35 mM, aproximativ 40 mM, aproximativ 45 mM, aproximativ 50 mM, aproximativ 55 mM, aproximativ 60 mM, aproximativ 65 mM, aproximativ 70 mM, aproximativ 75 mM, aproximativ 80 mM, aproximativ 85 mM, aproximativ 90 mM, aproximativ 95 mM sau aproximativ 100 mM

În unele realizări, compoziția farmaceutică cuprinde NaCl la o concentrație de aproximativ 60 mM.

15 În unele realizări, compoziția farmaceutică cuprinde zaharide.

În unele realizări, zaharida este zaharoză.

În unele realizări, zaharida este sorbitol.

În unele realizări, zaharida este manitol.

20 În unele realizări, compoziția farmaceutică cuprinde zaharide la o concentrație de la aproximativ 50 mM până la aproximativ 500 mM.

În unele realizări, compoziția farmaceutică cuprinde zaharide la o concentrație de la aproximativ 50 mM până la aproximativ 450 mM.

În unele realizări, compoziția farmaceutică cuprinde zaharide la o concentrație de la aproximativ 50 mM până la aproximativ 400 mM.

25 În unele realizări, compoziția farmaceutică cuprinde zaharide la o concentrație de la aproximativ 50 mM până la aproximativ 350 mM.

În unele realizări, compoziția farmaceutică cuprinde zaharide la o concentrație de la aproximativ 100 mM până la aproximativ 350 mM.

30 În unele realizări, compoziția farmaceutică cuprinde zaharide la o concentrație de la aproximativ 100 mM până la aproximativ 300 mM.

În unele realizări, compoziția farmaceutică cuprinde zaharide la o concentrație de aproximativ 100 mM , aproximativ 110 mM, aproximativ 120 mM, aproximativ 130 mM, aproximativ 140 mM, aproximativ 150 mM, aproximativ 160 mM, aproximativ 170 mM, aproximativ 180 mM, aproximativ 190 mM, aproximativ 200 mM, aproximativ 210 mM, 35 aproximativ 220 mM, aproximativ 230 mM, aproximativ 240 mM, aproximativ 250 mM, aproximativ 260 mM, aproximativ 270 mM, aproximativ 280 mM, aproximativ 290 mM, aproximativ 300 mM, aproximativ 310 mM, aproximativ 320 mM, aproximativ 330 mM, aproximativ 340 mM, aproximativ 350 mM, aproximativ 360 mM, aproximativ 370 mM, aproximativ 380 mM, aproximativ 390 mM, aproximativ 400 mM, aproximativ 410 mM, 40 aproximativ 420 mM, aproximativ 430 mM, aproximativ 440 mM, aproximativ 450 mM, aproximativ 460 mM, aproximativ 470 mM, aproximativ 480 mM, aproximativ 490 mM sau aproximativ 500 mM.

În unele realizări, compoziția farmaceutică cuprinde manitol.

45 În unele realizări, compoziția farmaceutică cuprinde manitol la o concentrație de la aproximativ 100 mM până la aproximativ 180 mM.

În unele realizări, compoziția farmaceutică cuprinde manitol la o concentrație de la aproximativ 120 mM până la aproximativ 160 mM.

În unele realizări, compoziția farmaceutică cuprinde manitol la o concentrație de aproximativ 100 mM, aproximativ 105 mM, aproximativ 110 mM, aproximativ 115 mM, 50 aproximativ 120 mM, aproximativ 125 mM, aproximativ 130 mM, aproximativ 135 mM, aproximativ 140 mM, aproximativ 145 mM, aproximativ 150 mM, aproximativ 155 mM, aproximativ 160 mM, aproximativ 165 mM, aproximativ 170 mM, aproximativ 175 mM sau aproximativ 180 mM.

55 În unele realizări, compoziția farmaceutică cuprinde manitol la o concentrație de aproximativ 140 mM.

În unele realizări, compoziția farmaceutică cuprinde polisorbato.

În unele realizări, compoziția farmaceutică cuprinde polisorbato-20 (PS-20).

În unele realizări, compoziția farmaceutică cuprinde polisorbato-20 (PS-20) la o concentrație de la aproximativ 0,01% m/v până la aproximativ 0,1% m/v.

60 În unele realizări, compoziția farmaceutică cuprinde polisorbato-20 (PS-20) la o concentrație de la aproximativ 0,01% m/v până la aproximativ 0,08% m/v.

În unele realizări, compoziția farmaceutică cuprinde polisorbitat-20 (PS-20) la o concentrație de la aproximativ 0,01% m/v până la aproximativ 0,04% m/v.

În unele realizări, compoziția farmaceutică cuprinde polisorbitat-20 (PS-20) la o concentrație de aproximativ 0,01% m/v, 0,02% m/v, 0,03% m/v, 0,04% m/v, 0,05% m/v, 0,06% m/v, 0,07% m/v, 0,08% m/v, 0,09% m/v sau 0,1% m/v.

Invenția furnizează de asemenea o compoziție farmaceutică, cum s-a definit în revendicări, cuprinzând

de la aproximativ 20 mg/mL până la aproximativ 120 mg/mL de anticorp anti-CD38 cuprinzând VH din SEQ ID NO: 4 și VL din SEQ ID NO: 5 în aproximativ 25 mM acid acetic, aproximativ 60 mM clorură de sodiu, aproximativ 140 mM manitol și aproximativ 0,04% m/v polisorbitat-20 (PS-20); la pH aproximativ 5,5; și aproximativ 30.000 U de hialuronidază în 10 mM L-Histidină, 130 mM NaCl, 10 mM L-Metionină, 0,02% Polisorbitat 80, pH 6,5.

În unele realizări, hialuronidaza este rHuPH20 (SEQ ID NO: 22).

În unele realizări, compoziția farmaceutică este o combinație nefixată.

Invenția furnizează de asemenea o compoziție farmaceutică, cum s-a definit în revendicări, cuprinzând

aproximativ 20 mg/mL de anticorp anti-CD38 cuprinzând VH din SEQ ID NO: 4 și VL din SEQ ID NO: 5 în aproximativ 25 mM acid acetic, aproximativ 60 mM clorură de sodiu, aproximativ 140 mM manitol și aproximativ 0,04% m/v polisorbitat-20 (PS-20); la pH aproximativ 5,5; și aproximativ 30.000 U de hialuronidază în 10 mM L-Histidină, 130 mM NaCl, 10 mM L-Metionină, 0,02% Polisorbitat 80, pH 6,5.

În unele realizări, hialuronidaza este rHuPH20 (SEQ ID NO: 22).

În unele realizări, compoziția farmaceutică este o combinație nefixată.

În unele realizări, compoziția farmaceutică cuprinde histidină.

În unele realizări, compoziția farmaceutică cuprinde histidină la o concentrație de la aproximativ 1 mM până la aproximativ 50 mM.

În unele realizări, compoziția farmaceutică cuprinde histidină la o concentrație de la aproximativ 5 mM până la aproximativ 50 mM.

În unele realizări, compoziția farmaceutică cuprinde histidină la o concentrație de la aproximativ 5 mM până la aproximativ 30 mM.

În unele realizări, compoziția farmaceutică cuprinde histidină la o concentrație de la aproximativ 5 mM până la aproximativ 20 mM.

În unele realizări, compoziția farmaceutică cuprinde histidină la o concentrație de la aproximativ 5 mM până la aproximativ 15 mM.

În unele realizări, compoziția farmaceutică cuprinde histidină la o concentrație de la aproximativ 5 mM până la aproximativ 10 mM.

În unele realizări, compoziția farmaceutică cuprinde histidină la o concentrație de aproximativ 1 mM, aproximativ 2 mM, aproximativ 3 mM, aproximativ 4 mM, aproximativ 5 mM, aproximativ 6 mM, aproximativ 7 mM, aproximativ 8 mM, aproximativ 9 mM, aproximativ 10 mM, aproximativ 11 mM, aproximativ 12 mM, aproximativ 13 mM, aproximativ 14 mM, aproximativ 15 mM, aproximativ 16 mM, aproximativ 17 mM, aproximativ 18 mM, aproximativ 19 mM, aproximativ 20 mM, aproximativ 21 mM, aproximativ 22 mM, aproximativ 23 mM, aproximativ 24 mM, aproximativ 25 mM, aproximativ 26 mM, aproximativ 27 mM, aproximativ 28 mM, aproximativ 29 mM, aproximativ 30 mM, aproximativ 31 mM, aproximativ 32 mM, aproximativ 33 mM, aproximativ 34 mM, aproximativ 35 mM, aproximativ 36 mM, aproximativ 37 mM, aproximativ 38 mM, aproximativ 39 mM, aproximativ 40 mM, aproximativ 41 mM, aproximativ 42 mM, aproximativ 43 mM, aproximativ 44 mM, aproximativ 45 mM, aproximativ 46 mM, aproximativ 47 mM, aproximativ 48 mM, aproximativ 49 mM sau aproximativ 50 mM.

În unele realizări, compoziția farmaceutică cuprinde histidină la o concentrație de aproximativ 5 mM.

În unele realizări, compoziția farmaceutică cuprinde histidină la o concentrație de aproximativ 10 mM.

În unele realizări, compoziția farmaceutică cuprinde histidină la o concentrație de aproximativ 15 mM.

În unele realizări, compoziția farmaceutică cuprinde histidină la o concentrație de aproximativ 20 mM.

În unele realizări, compoziția farmaceutică cuprinde sorbitol la o concentrație de la aproximativ 50 mM până la aproximativ 500 mM.

În unele realizări, compoziția farmaceutică cuprinde sorbitol la o concentrație de la aproximativ 50 mM până la aproximativ 450 mM.

În unele realizări, compoziția farmaceutică cuprinde sorbitol la o concentrație de la aproximativ 50 mM până la aproximativ 400 mM.

În unele realizări, compoziția farmaceutică cuprinde sorbitol la o concentrație de la aproximativ 50 mM până la aproximativ 350 mM.

5 În unele realizări, compoziția farmaceutică cuprinde sorbitol la o concentrație de la aproximativ 100 mM până la aproximativ 350 mM.

În unele realizări, compoziția farmaceutică cuprinde sorbitol la o concentrație de la aproximativ 100 mM până la aproximativ 300 mM.

10 În unele realizări, compoziția farmaceutică cuprinde sorbitol la o concentrație de aproximativ 100 mM , aproximativ 110 mM, aproximativ 120 mM, aproximativ 130 mM, aproximativ 140 mM, aproximativ 150 mM, aproximativ 160 mM, aproximativ 170 mM, aproximativ 180 mM, aproximativ 190 mM, aproximativ 200 mM, aproximativ 210 mM, aproximativ 220 mM, aproximativ 230 mM, aproximativ 240 mM, aproximativ 250 mM, aproximativ 260 mM, aproximativ 270 mM, aproximativ 280 mM, aproximativ 290 mM, 15 aproximativ 300 mM, aproximativ 310 mM, aproximativ 320 mM, aproximativ 330 mM, aproximativ 340 mM, aproximativ 350 mM, aproximativ 360 mM, aproximativ 370 mM, aproximativ 380 mM, aproximativ 390 mM, aproximativ 400 mM, aproximativ 410 mM, aproximativ 420 mM, aproximativ 430 mM, aproximativ 440 mM, aproximativ 450 mM, aproximativ 460 mM, aproximativ 470 mM, aproximativ 480 mM, aproximativ 490 mM sau 20 aproximativ 500 mM.

În unele realizări, compoziția farmaceutică cuprinde sorbitol la o concentrație de aproximativ 50 mM.

În unele realizări, compoziția farmaceutică cuprinde sorbitol la o concentrație de aproximativ 100 mM.

25 În unele realizări, compoziția farmaceutică cuprinde sorbitol la o concentrație de aproximativ 150 mM.

În unele realizări, compoziția farmaceutică cuprinde sorbitol la o concentrație de aproximativ 200 mM.

30 În unele realizări, compoziția farmaceutică cuprinde sorbitol la o concentrație de aproximativ 250 mM.

În unele realizări, compoziția farmaceutică cuprinde sorbitol la o concentrație de aproximativ 300 mM.

În unele realizări, compoziția farmaceutică cuprinde sorbitol la o concentrație de aproximativ 350 mM.

35 În unele realizări, compoziția farmaceutică cuprinde sorbitol la o concentrație de aproximativ 400 mM.

În unele realizări, compoziția farmaceutică cuprinde zaharoză la o concentrație de la aproximativ 50 mM până la aproximativ 500 mM.

40 În unele realizări, compoziția farmaceutică cuprinde zaharoză la o concentrație de la aproximativ 50 mM până la aproximativ 450 mM.

În unele realizări, compoziția farmaceutică cuprinde zaharoză la o concentrație de la aproximativ 50 mM până la aproximativ 400 mM.

În unele realizări, compoziția farmaceutică cuprinde zaharoză la o concentrație de la aproximativ 50 mM până la aproximativ 350 mM.

45 În unele realizări, compoziția farmaceutică cuprinde zaharoză la o concentrație de la aproximativ 100 mM până la aproximativ 350 mM.

În unele realizări, compoziția farmaceutică cuprinde zaharoză la o concentrație de la aproximativ 100 mM până la aproximativ 200 mM.

50 În unele realizări, compoziția farmaceutică cuprinde zaharoză la o concentrație de aproximativ 100 mM , aproximativ 110 mM, aproximativ 120 mM, aproximativ 130 mM, aproximativ 140 mM, aproximativ 150 mM, aproximativ 160 mM, aproximativ 170 mM, aproximativ 180 mM, aproximativ 190 mM, aproximativ 200 mM, aproximativ 210 mM, aproximativ 220 mM, aproximativ 230 mM, aproximativ 240 mM, aproximativ 250 mM, aproximativ 260 mM, aproximativ 270 mM, aproximativ 280 mM, aproximativ 290 mM, 55 aproximativ 300 mM, aproximativ 310 mM, aproximativ 320 mM, aproximativ 330 mM, aproximativ 340 mM, aproximativ 350 mM, aproximativ 360 mM, aproximativ 370 mM, aproximativ 380 mM, aproximativ 390 mM, aproximativ 400 mM, aproximativ 410 mM, aproximativ 420 mM, aproximativ 430 mM, aproximativ 440 mM, aproximativ 450 mM, aproximativ 460 mM, aproximativ 470 mM, aproximativ 480 mM, aproximativ 490 mM sau 60 aproximativ 500 mM.

În unele realizări, compoziția farmaceutică cuprinde zaharoză la o concentrație de aproximativ 50 mM.

În unele realizări, compoziția farmaceutică cuprinde zaharoză la o concentrație de aproximativ 100 mM.

5 În unele realizări, compoziția farmaceutică cuprinde zaharoză la o concentrație de aproximativ 150 mM.

În unele realizări, compoziția farmaceutică cuprinde zaharoză la o concentrație de aproximativ 200 mM.

10 În unele realizări, compoziția farmaceutică cuprinde zaharoză la o concentrație de aproximativ 250 mM.

În unele realizări, compoziția farmaceutică cuprinde zaharoză la o concentrație de aproximativ 300 mM.

În unele realizări, compoziția farmaceutică cuprinde zaharoză la o concentrație de aproximativ 350 mM.

15 În unele realizări, compoziția farmaceutică cuprinde zaharoză la o concentrație de aproximativ 400 mM.

În unele realizări, compoziția farmaceutică cuprinde metionină.

În unele realizări, compoziția farmaceutică cuprinde metionină la o concentrație de la aproximativ 0,1 mg/mL până la aproximativ 5 mg/mL.

20 În unele realizări, compoziția farmaceutică cuprinde metionină la o concentrație de la aproximativ 0,1 mg/mL până la aproximativ 2,5 mg/mL.

În unele realizări, compoziția farmaceutică cuprinde metionină la o concentrație de la aproximativ 1 mg/mL până la aproximativ 2 mg/mL.

25 În unele realizări, compoziția farmaceutică cuprinde metionină la o concentrație de aproximativ 0,5 mg/mL, aproximativ 1 mg/mL, aproximativ 1,1 mg/mL, aproximativ 1,2 mg/mL, aproximativ 1,3 mg/mL, aproximativ 1,4 mg/mL, aproximativ 1,5 mg/mL, aproximativ 1,6 mg/mL, aproximativ 1/7 mg/mL, aproximativ 1,8 mg/mL, aproximativ 1,9 mg/mL, aproximativ 2,0 mg/mL, aproximativ 2,1 mg/mL, aproximativ 2,2 mg/mL, aproximativ 2/3 mg/mL, aproximativ 2,4 mg/mL, aproximativ 2,5 mg/mL, aproximativ 2,6 mg/mL, aproximativ 2,7 mg/mL, aproximativ 2,8 mg/mL, aproximativ 2,9 mg/mL, aproximativ 3 mg/mL, aproximativ 3,5 mg/mL, aproximativ 4 mg/mL, aproximativ 4,5 mg/mL sau aproximativ 5 mg/mL.

În unele realizări, compoziția farmaceutică este la pH 5,0 până la 6,0.

În unele realizări, compoziția farmaceutică este la pH 5,3 până la 5,8.

În unele realizări, compoziția farmaceutică este la pH 5,5.

35 În unele realizări, compoziția farmaceutică este la pH 5,6.

Invenția furnizează de asemenea o compoziție farmaceutică, cum s-a definit în revendicări, cuprinzând

40 de la aproximativ 1 mg/mL până la aproximativ 180 mg/mL de anticorp anti-CD38; de la aproximativ 50 U/mL până la aproximativ 5.000 U/mL de hialuronidază de la aproximativ 5 mM până la aproximativ 50 mM histidină; și de la aproximativ 50 mM până la aproximativ 400 mM sorbitol.

În unele realizări, hialuronidaza este rHuPH20.

Invenția furnizează de asemenea o compoziție farmaceutică, cum s-a definit în revendicări, cuprinzând

45 de la aproximativ 1 mg/mL până la aproximativ 180 mg/mL de anticorp anti-CD38; de la aproximativ 50 U/mL până la aproximativ 5.000 U/mL de hialuronidază de la aproximativ 5 mM până la aproximativ 50 mM histidină;

de la aproximativ 50 mM până la aproximativ 400 mM sorbitol;

50 de la aproximativ 0,01% m/v până la aproximativ 0,1% PS-20; și de la aproximativ 0,1 mg/mL până la aproximativ 2,5 mg/mL metionină.

În unele realizări, hialuronidaza este rHuPH20.

Invenția furnizează de asemenea o compoziție farmaceutică, cum s-a definit în revendicări, cuprinzând

55 de la aproximativ 100 mg/mL până la aproximativ 120 mg/mL de anticorp anti-CD38;

de la aproximativ 50 U/mL până la aproximativ 5.000 U/mL de hialuronidază;

aproximativ 10 mM histidină; și

de la aproximativ 100 mM până la aproximativ 300 mM sorbitol.

În unele realizări, hialuronidaza este rHuPH20.

60 În unele realizări, compoziția farmaceutică cuprinde în plus de la aproximativ 0,01% m/v până la aproximativ 0,04% m/v PS-20.

În unele realizări, compoziția farmaceutică cuprinde în plus de la aproximativ 1 mg/mL până la aproximativ 2 mg/mL metionină.

În unele realizări, compoziția farmaceutică cuprinde în plus de la aproximativ 100 mM până la aproximativ 200 mM zaharoză.

5 În unele realizări, anticorpul anti-CD38 cuprinde lanțul greu și lanțul ușor din SEQ ID NO: 12 și 13, respectiv.

În unele realizări, hialuronidaza cuprinde rHuPH20 (SEQ ID NO: 22).

10 Invenția furnizează de asemenea o compoziție farmaceutică, cum s-a definit în revendicări, cuprinzând de la aproximativ 1 mg/mL până la aproximativ 180 mg/mL de anticorp anti-CD38 cuprinzând VH și VL din SEQ ID NO: 4 și 5, respectiv; de la aproximativ 50 U/mL până la aproximativ 5.000 U/mL de hialuronidază de la aproximativ 5 mM până la aproximativ 50 mM histidină; și de la aproximativ 50 mM până la aproximativ 400 mM sorbitol.

15 În unele realizări, hialuronidaza este rHuPH20.

Invenția furnizează de asemenea o compoziție farmaceutică, cum s-a definit în revendicări, cuprinzând de la aproximativ 1 mg/mL până la aproximativ 180 mg/mL de anticorp anti-CD38 cuprinzând VH și VL din SEQ ID NO: 4 și 5, respectiv; 20 de la aproximativ 50 U/mL până la aproximativ 5.000 U/mL hialuronidază de la aproximativ 5 mM până la aproximativ 50 mM histidină; de la aproximativ 50 mM până la aproximativ 400 mM sorbitol; de la aproximativ 0,01% m/v până la aproximativ 0,1% PS-20; și de la aproximativ 0,1 mg/mL până la aproximativ 2,5 mg/mL metionină.

25 În unele realizări, hialuronidaza este rHuPH20.

Invenția furnizează de asemenea o compoziție farmaceutică, cum s-a definit în revendicări, cuprinzând de la aproximativ 100 mg/mL până la aproximativ 120 mg/mL de anticorp anti-CD38 cuprinzând VH și VL din SEQ ID NO: 4 și 5, respectiv; 30 de la aproximativ 50 U/mL până la aproximativ 5.000 U/mL rHuPH20; aproximativ 10 mM histidină; de la aproximativ 100 mM până la aproximativ 300 mM sorbitol; de la aproximativ 0,01% m/v până la aproximativ 0,04% m/v PS-20; și de la aproximativ 1 mg/mL până la aproximativ 2 mg/mL metionină.

35 Invenția furnizează de asemenea o compoziție farmaceutică, cum s-a definit în revendicări, cuprinzând aproximativ 120 mg/mL de anticorp anti-CD38 cuprinzând VH și VL din SEQ ID NO: 4 și 5, respectiv; aproximativ 2.000 U/mL rHuPH20; 40 aproximativ 10 mM histidină; aproximativ 300 mM sorbitol; aproximativ 0,04% m/v PS-20; și aproximativ 1 mg/mL metionină; la pH aproximativ 5,6.

45 În unele realizări, compoziția farmaceutică este o combinație fixată.

Formulările pentru a fi utilizate pentru administrarea *in vivo* sunt în general sterile. Sterilitatea poate fi cu ușurință realizată, de exemplu, prin filtrare prin membrane de filtrare sterilă.

50 Compozițiile farmaceutice ale invenției pot fi preparate prin metode cunoscute. De exemplu, compozițiile farmaceutice pot fi preparate, de exemplu, prin dizolvarea, suspendarea sau emulsionarea anticorpului anti-CD38 într-un mediu apos steril sau într-un mediu uleios utilizat în mod convențional pentru injecții.

Administrare

Compozițiile farmaceutice ale invenției pot fi administrate ca o combinație nefixată.

55 Compozițiile farmaceutice ale invenției pot fi de asemenea administrate ca combinație fixată, de exemplu, ca formă de dozare unitară (sau formă unitară de dozare). Combinațiile fixate pot fi avantajoase pentru ușurința administrării și uniformitatea dozajului.

Invenția furnizează de asemenea o formă de dozare unitară, cuprinzând anticorpul anti-CD38 cuprinzând VH din SEQ ID NO: 4 și VL din SEQ ID NO: 5 într-o cantitate de aproximativ 1.800 mg; rHuPH20 într-o cantitate de aproximativ 30.000 U; 60 histidină la o concentrație de la aproximativ 5 mM până la aproximativ 15 mM; sorbitol la o concentrație de la aproximativ 100 mM până la aproximativ 300 mM;

PS-20 la o concentrație de la aproximativ 0,01% m/v până la aproximativ 0,04 % m/v; și metionină la o concentrație de la aproximativ 1 mg/mL până la aproximativ 2 mg/mL, la un pH de aproximativ 5,5.

5 Invenția furnizează de asemenea o formă de dozare unitară, cuprinzând anticorpul anti-CD38 cuprinzând VH din SEQ ID NO: 4 și VL din SEQ ID NO: 5 într-o cantitate de aproximativ 1.800 mg;

rHuPH20 într-o cantitate de la aproximativ 30.000 U;

histidină la o concentrație de aproximativ 10 mM;

sorbitol la o concentrație de aproximativ 300 mM;

10 PS-20 la o concentrație de aproximativ 0,04 % m/v; și

metionină la o concentrație de la aproximativ 1 mg/mL; la un pH de aproximativ 5,5.

Compoziția farmaceutică a invenției poate fi administrată într-un volum total de aproximativ 80 mL, 90 mL, 100 mL, 110 mL sau 120 mL.

15 Compoziția farmaceutică a invenției poate fi administrată într-un volum total de aproximativ 10 mL, 11 mL, 12 mL, 13 mL, 14 mL, 15 mL, 16 mL, 17 mL, 18 mL, 19 mL, 20 mL, 25 mL, 30 mL, 35 mL, 40 mL, 45 mL, 50 mL, 55 mL, 60 mL, 65 mL, 70 mL, 75 mL, 80 mL, 85 mL, 90 mL, 95 mL, 100 mL, 105 mL, 110 mL, 115 mL sau 120 mL.

Compoziția farmaceutică a invenției poate fi administrată într-un volum total de aproximativ 10 mL.

20 Compoziția farmaceutică a invenției poate fi administrată într-un volum total de aproximativ 15 mL.

Compoziția farmaceutică a invenției poate fi administrată într-un volum total de aproximativ 20 mL.

25 Volumul total al administrării poate fi de obicei mai mic pentru combinațiile fixate în comparație cu combinațiile nefixate.

Divulgarea furnizează de asemenea un recipient cuprinzând compoziția farmaceutică a invenției.

Invenția furnizează de asemenea un recipient cuprinzând forma de dozare unitară a invenției.

30 Recipientul poate fi o fiolă, un cartuș, o seringă, o seringă preumplută sau un tub de unică folosință.

Administrarea compozițiilor farmaceutice ale invenției poate fi repetată după o zi, două zile, trei zile, patru zile, cinci zile, șase zile, o săptămână, două săptămâni, trei săptămâni, patru săptămâni, cinci săptămâni, șase săptămâni, șapte săptămâni, două luni, trei luni, patru luni, cinci luni, șase luni sau mai mult. Cursurile repetate de tratament sunt de asemenea posibile, pe măsură ce administrarea este cronică. Administrarea repetată poate fi la aceeași doză sau la o doză diferită. De exemplu, compozițiile farmaceutice ale invenției pot fi administrate o dată săptămânal timp de opt săptămâni, urmate de o dată la două săptămâni timp de 16 săptămâni, urmate de o dată la patru săptămâni.

40 Compoziția farmaceutică a invenției poate fi administrată subcutanat.

Compoziția farmaceutică a invenției poate fi administrată subcutanat în regiunea abdominală.

45 Administrarea subcutanată poate fi realizată utilizând un dispozitiv. Dispozitivul poate fi o seringă, o seringă preumplută, un auto-injector, fie de unică folosință sau reutilizabil, un injector tub, un injector plasture, un injector portabil sau o seringă ambulatorie cu pompă de perfuzie cu seturi de perfuzie subcutanate.

50 Pentru combinațiile nefixate, 20 mg/mL de anticorp anti-CD38 în 25 mM acetat de sodiu, 60 mM clorură de sodiu, 140 mM D-manitol, 0,04% polisorbit 20, pH 5,5 pot fi amestecate cu 1 mg/mL (75-150 kU/mL) rHuPH20 în 10 mM L-Histidină, 130 mM NaCl, 10 mM L-Metionină, 0,02% polisorbit-80, pH 6,5 înainte de administrarea amestecului la un subiect.

55 Compozițiile farmaceutice ale invenției pot fi de asemenea administrate profilactic pentru a reduce riscul de dezvoltare a cancerului, întârzierea debutului de apariție a unui eveniment în progresul cancerului, și/sau reducerea riscului de recurență când un cancer este în remisie. Acest lucru poate fi în special util la pacienții la care este dificil de localizat o tumoare care este cunoscută a fi prezentă din cauza altor factori biologici.

Compoziții farmaceutice pentru utilizare în metode de tratament

Invenția furnizează de asemenea o compoziție farmaceutică pentru utilizare într-o metodă de tratare a unui cancer, cuprinzând administrarea la un subiect care are nevoie de aceasta a compoziției farmaceutice a invenției pentru un timp suficient pentru a trata cancerul.

60 În unele realizări, cancerul este o malignitate hematologică pozitivă CD38.

În unele realizări, malignitatea hematologică pozitivă CD38 este mielomul multiplu.

În unele realizări, malignitatea hematologică pozitivă CD38 este limfomul difuz cu celule B mari (DLBCL).

În unele realizări, malignitatea hematologică pozitivă CD38 este limfomul non-Hodgkin.

În unele realizări, malignitatea hematologică pozitivă CD38 este leucemia limfoblastică acută (ALL).

În unele realizări, malignitatea hematologică pozitivă CD38 este limfomul folicular (FL).

În unele realizări, malignitatea hematologică pozitivă CD38 este limfomul Burkitt (BL).

În unele realizări, malignitatea hematologică pozitivă CD38 este limfomul cu celule de manta (MCL).

În unele realizări, malignitatea hematologică pozitivă CD38 este amiloidoza lanțului ușor (AL).

În unele realizări, malignitatea hematologică pozitivă CD38 este mielomul multiplu, leucemia limfoblastică acută (ALL), limfomul non-Hodgkin, limfomul difuz cu celule B mari (DLBCL), limfomul Burkitt (BL), limfomul folicular (FL) sau limfomul cu celule manta (MCL).

Exemple de limfoame non-Hodgkin cu celule B sunt granulomatoză limfomatoidă, limfom primar cu efuziune, limfom intravascular cu celule B mari, limfom mediastinal cu celule B mari, boli ale lanțurilor grele (incluzând γ , μ , și o boală), limfoame induse de terapia cu agenți imunosupresivi, cum ar fi limfom indus de ciclosporină, și limfom indus de metotrexat.

În unele realizări, cancerul este o tumoare solidă.

Invenția furnizează de asemenea o compoziție farmaceutică pentru utilizare într-o metodă de tratare a malignității hematologice pozitive CD38, cuprinzând administrarea la un subiect care are nevoie de aceasta a unei compoziții farmaceutice a invenției subcutanat pentru un timp suficient pentru a trata malignitatea hematologică pozitivă CD38, în care concentrația de anticorp anti-CD38 în compoziția farmaceutică este de aproximativ 20 mg/mL.

Invenția furnizează de asemenea o compoziție farmaceutică pentru utilizare într-o metodă de tratare a malignității hematologice pozitive CD38, cuprinzând administrarea la un subiect care are nevoie de aceasta a unei compoziții farmaceutice cuprinzând aproximativ 1.800 mg de anticorp anti-CD38 cuprinzând VH din SEQ ID NO: 4 și VL din SEQ ID NO: 5 și aproximativ 30.000 U de hialuronidază rHuPH20 din SEQ ID NO: 22 subcutanat pentru un timp suficient pentru a trata malignitatea hematologică pozitivă CD38, în care concentrația de anticorp anti-CD38 în compoziția farmaceutică este de aproximativ 20 mg/mL.

Invenția furnizează de asemenea o compoziție farmaceutică pentru utilizare într-o metodă de tratare a malignității hematologice pozitive CD38, cuprinzând administrarea la un subiect care are nevoie de aceasta a unei compoziții farmaceutice cuprinzând aproximativ 1.800 mg de anticorp anti-CD38 cuprinzând VH din SEQ ID NO: 4 și VL din SEQ ID NO: 5 și aproximativ 30.000 U de hialuronidază, în care compoziția farmaceutică este o combinație nefixată.

Invenția, cum s-a definit în revendicări, furnizează de asemenea o compoziție farmaceutică pentru utilizare într-o metodă de tratare a malignității hematologice pozitive CD38, cuprinzând administrarea la un subiect care are nevoie de aceasta a compoziției farmaceutice, în care compoziția farmaceutică cuprinde de la aproximativ 20 mg/mL până la aproximativ 120 mg/mL de anticorp anti-CD38 cuprinzând VH din SEQ ID NO: 4 și VL din SEQ ID NO: 5 în aproximativ 25 mM acid acetic, aproximativ 60 mM clorură de sodiu, aproximativ 140 manitol și aproximativ 0,04% m/v polisorbit-20 (PS-20); la pH aproximativ 5,5; și aproximativ de la 30.000 U până la aproximativ 45.000 U de hialuronidază în 10 mM L-histidină, 130 mM NaCl, 10 mM L-metionină, 0,02% Polisorbit-80, pH 6,5. În unele realizări, hialuronidaza este rHuPH20.

În unele realizări, compoziția farmaceutică este o combinație nefixată.

Invenția, cum s-a definit în revendicări, furnizează de asemenea o compoziție farmaceutică pentru utilizare într-o metodă de tratare a malignității hematologice pozitive CD38, cuprinzând administrarea la un subiect care are nevoie de aceasta a compoziției farmaceutice, în care compoziția farmaceutică cuprinde aproximativ 20 mg/mL de anticorp anti-CD38 cuprinzând VH din SEQ ID NO: 4 și VL din SEQ ID NO: 5 în aproximativ 25 mM acid acetic, aproximativ 60 mM clorură de sodiu, aproximativ 140 manitol și aproximativ 0,04% m/v polisorbit-20 (PS-20); la pH aproximativ 5,5; și aproximativ 30.000 U de hialuronidază în 10 mM L-histidină, 130 mM NaCl, 10 mM L-metionină, 0,02% Polisorbit-80, pH 6,5.

În unele realizări, hialuronidaza este rHuPH20.

În unele realizări, compoziția farmaceutică este o combinație nefixată.

Invenția, cum s-a definit în revendicări, furnizează de asemenea o compoziție farmaceutică pentru utilizare într-o metodă de tratare a malignității hematologice pozitive CD38,

cuprinzând administrarea la un subiect care are nevoie de aceasta a compoziției farmaceutice cuprinzând anticorpul anti-CD38 cuprinzând VH din SEQ ID NO: 4 și VL din SEQ ID NO: 5 și hialuronidază, în care compoziția farmaceutică este o combinație fixată.

5 Invenția, cum s-a definit în revendicări, furnizează de asemenea o compoziție farmaceutică pentru utilizare într-o metodă de tratare a malignității hematologice pozitive CD38, cuprinzând administrarea la un subiect care are nevoie de aceasta a compoziției farmaceutice cuprinzând

de la aproximativ 1 mg/mL până la aproximativ 180 mg/mL de anticorp anti-CD38 cuprinzând VH și VL din SEQ ID NO: 4 și 5, respectiv;

10 de la aproximativ 50 U/mL până la aproximativ 5.000 U/mL de hialuronidază de la aproximativ 5 mM până la aproximativ 50 mM histidină; și de la aproximativ 50 mM până la aproximativ 400 mM sorbitol.

În unele realizări, hialuronidaza este rHuPH20.

15 Invenția, cum s-a definit în revendicări, furnizează de asemenea o compoziție farmaceutică pentru utilizare într-o metodă de tratare a malignității hematologice pozitive CD38, cuprinzând administrarea la un subiect care are nevoie de aceasta a compoziției farmaceutice cuprinzând

de la aproximativ 1 mg/mL până la aproximativ 180 mg/mL de anticorp anti-CD38 cuprinzând VH și VL din SEQ ID NO: 4 și 5, respectiv;

20 de la aproximativ 50 U/mL până la aproximativ 5.000 U/mL de hialuronidază de la aproximativ 5 mM până la aproximativ 50 mM histidină;

de la aproximativ 50 mM până la aproximativ 400 mM sorbitol;

de la aproximativ 0,01% m/v până la aproximativ 0,1% PS-20; și

de la aproximativ 0,1 mg/mL până la aproximativ 2,5 mg/mL metionină.

25 În unele realizări, hialuronidaza este rHuPH20.

Invenția, cum s-a definit în revendicări, furnizează de asemenea o compoziție farmaceutică pentru utilizare într-o metodă de tratare a malignității hematologice pozitive CD38, cuprinzând administrarea la un subiect care are nevoie de aceasta a compoziției farmaceutice cuprinzând

30 de la aproximativ 100 mg/mL până la aproximativ 120 mg/mL de anticorp anti-CD38 cuprinzând VH și VL din SEQ ID NO: 4 și 5, respectiv;

de la aproximativ 50 U/mL până la aproximativ 5.000 U/mL de hialuronidază; aproximativ 10 mM histidină;

de la aproximativ 100 mM până la aproximativ 300 mM sorbitol;

35 de la aproximativ 0,01% m/v până la aproximativ 0,04% m/v PS-20; și

de la aproximativ 1 mg/mL până la aproximativ 2 mg/mL metionină.

În unele realizări, hialuronidaza este rHuPH20.

40 Invenția, cum s-a definit în revendicări, furnizează de asemenea o compoziție farmaceutică pentru utilizare într-o metodă de tratare a malignității hematologice pozitive CD38, cuprinzând administrarea la un subiect care are nevoie de aceasta a compoziției farmaceutice cuprinzând

aproximativ 120 mg/mL de anticorp anti-CD38 cuprinzând VH și VL din SEQ ID NO: 4 și 5, respectiv;

aproximativ 2.000 U/mL rHuPH20;

45 aproximativ 10 mM histidină;

aproximativ 300 mM sorbitol;

aproximativ 0,04% m/v PS-20; și

aproximativ 1 mg/mL metionină; la pH aproximativ 5,6.

În unele realizări, hialuronidaza este rHuPH20.

50 Anticorpul anti-CD38 în compozițiile farmaceutice ale invenției pot induce uciderea celulelor tumorale care exprimă CD38 prin citotoxicitate mediată de celule dependente de anticorp (ADCC), fagocitază celulară dependentă de anticorp (ADCP), citotoxicitate dependentă de complement (CDC), apoptoză, sau modularea activității enzimatică a CD38. Anticorpul anti-CD38 din compozițiile farmaceutice ale invenției pot de asemenea media eficacitatea antitumorală prin efectele lor imunomodulatoare de inducere a proliferării celulelor T CD4⁺ și CD8⁺, și/sau prin inhibarea ușurinței răspunsurilor inflamatorii mediate de celulele supresoare derivate din mieloid (MDSC-uri) și de celulele reglatoare T (Treg-uri).

60 „Citotoxicitatea celulară dependentă de anticorp”, „citotoxicitatea mediată de celula dependentă de anticorp” sau „ADCC” este un mecanism pentru inducerea morții celulei care depinde de interacțiunea celulelor țintă acoperite de anticorp cu celule efectoare care posedă activitate litică, cum ar fi celulele ucigașe naturale, monocitele, macrofagele și neutrofilele prin

receptori Fc gama (FcγR) exprimați pe celulele efectoare. De exemplu, celulele NK exprimă FcγRIIIa, în timp ce monocitele exprimă FcγRI, FcγRII și FcγRIIIa. Moarte celulei țintă acoperită de anticorp, cum ar fi celulele care exprimă CD38, are loc ca rezultat al activității celulei efectoare prin secreția proteinelor și proteazelor care formează membrana poroasă. Pentru a evalua activitatea ADCC a unui anticorp care leagă specific CD38, anticorpul poate fi adăugat la celulele care exprimă CD38 în combinație cu celulele efectoare imune, care pot fi activate de complecși anticorp antigen conducând la citoliza celulei țintă. Citoliza este detectată în general prin eliberarea substraturilor radioactive de etichetă (de exemplu substraturi radioactive, coloranți fluorescenți sau proteine intracelulare naturale) din celulele lizate. Exemple de celule efectoare pentru astfel de teste includ celulele mononucleare din sangele periferic (PBMC) și celulele NK. Exemple de celule țintă includ Treg-urile sau MDSC-urile care exprimă CD38. Într-un exemplu de test, celulele țintă sunt etichetate cu 20 μCi de ⁵¹Cr timp de 2 ore și spălate extensiv. Concentrația de celule a celulelor țintă poate fi ajustată până la 1×10⁶celule/ml, și se adaugă anticorpi anti-CD38 la diferite concentrații. Testele încep prin adăugarea celulelor țintă la un raport celular efector:țintă de 40:1. După incubare timp de 3 ore la 37°C testele sunt oprite prin centrifugare, și ⁵¹Cr eliberat din celulele lizate este măsurat într-un contor de scintilație. Procentajul de citotoxicitate celulară poate fi calculat ca % din lizarea maximă care poate fi indusă prin adăugarea a 3% acid percloric la celulele țintă.

„Fagocitoza celulară dependentă de anticorp” („ADCP”) se referă la un mecanism de eliminare a celulelor țintă acoperite de anticorp prin internalizarea celulelor fagocitice, cum ar fi macrofagele sau celulele dendritice. ADCP poate fi evaluat prin utilizarea de Treg-uri sau MDSC-uri care exprimă CD38 ca celule țintă modificate genetic pentru a exprima GFP sau altă moleculă etichetată. Raportul celular efector:țintă poate fi de exemplu 4:1. Celulele efectoare pot fi incubate cu celule țintă timp de 4 ore cu sau fără anticorp anti-CD38. După incubare, celulele pot fi detașate utilizand acutaza. Macrofagele pot fi identificate cu anticorpi anti-CD11b și anti-CD14 cuplați la o etichetă fluorescentă, și procentajul de fagocitoză poate fi determinat pe baza % de GFP fluorescent în macrofagele CD11⁺CD14⁺ utilizand metode standard.

„Citotoxicitatea dependentă de complement”, sau „CDC”, se referă la un mecanism pentru inducerea morții celulei în care un domeniu efector Fc al unui anticorp legat la țintă se leagă și activează componenta complement C1q care în schimb activează cascada de complement conducand la moartea celulei țintă. Activarea complementului poate conduce de asemenea la depozitia componentelor complement pe suprafața celulei țintă care facilitează ADCC prin legarea receptorilor complement (de exemplu, CR3) pe leucocite.

Abilitatea anticorpilor monoclonali de a induce ADCC poate fi sporită prin modificarea genetică a componentei lor oligozaharidă. IgG1 sau IgG3 umani sunt N-glicozilați la Asn297 cu majoritatea glicanilor în formele G0, G0F, G1, GIF, G2 sau G2F biantenare bine cunoscute. Anticorpii produși de celulele CHO nemodificate genetic au de obicei un conținut de fucoză glican de aproximativ cel puțin 85%. Îndepărtarea fucozei miezului de oligozaharidele de tip complex biantenar atașate la regiunile Fc sporește ADCC a anticorpilor prin îmbunătățirea legării la FcγRIIIa fără alterarea legării la antigen sau a activității CDC. Astfel de mAb-uri pot fi obținute utilizand diferite metode raportate pentru a conduce la expresia cu succes a anticorpilor defucozilați relativ ridicați care poartă tipul de complex biantenar al oligozaharidelor Fc cum ar fi controlul osmolalității de cultură (Konno și colab., Cytotechnology 64:249-65, 2012), aplicația unei linii CHO variantă Lec13 ca linie de celule gazdă (Shields și colab., J Biol Chem 277:26733-26740, 2002), aplicația unei linii CHO variantă EB66 ca linie de celule gazdă (Olivier și colab., MAbs ;2(4), 2010; Epub ahead of print; PMID:20562582), aplicația unei linii celulare hibridom de șobolan YB2/0 ca linie de celule gazdă (Shinkawa și colab., J Biol Chem 278:3466-3473, 2003), introducerea unei mici interferări ARN specifice împotriva genei α 1,6-fucoziltransferazei (*FUT8*) (Mori și colab., Biotechnol Bioeng88:901-908, 2004), sau coexprimarea de β-1,4-N-acetilglucozaminiltransferazei III și Golgi α-manozidazei II sau a unui inhibitor potent de alfa-manosidază I, kifunensină (Ferrara și colab., J Biol Chem281:5032-5036, 2006, Ferrara și colab., Biotechnol Bioeng 93:851-861, 2006; Xhou și colab., Biotechnol Bioeng 99:652-65, 2008). ADCC obținut cu anticorpii anti-CD38 utilizați în invenție, și în unele realizări fiecare și oricare dintre realizările numerotate listate mai jos, poate fi de asemenea sporit prin anumite substituții în anticorpul Fc. Exemple de substituții sunt de exemplu substituțiile la pozițiile de aminoacid 256, 290, 298, 312, 356, 330, 333, 334, 360, 378 sau 430 (numărarea reziduurilor în conformitate cu indicele EU) cum s-a descris în Brevetul S.U.A. nr. 6.737.056.

În unele realizări, anticorpul anti-CD38 cuprinde o substituție în anticorpul Fc.

În unele realizări, anticorpulanti-CD38 cuprinde o substituție în anticorpul Fc la pozițiile de aminoacid 256, 290, 298, 312, 356, 330, 333, 334, 360, 378 sau 430 (numărarea reziduurilor în conformitate cu indicele EU).

În unele realizări, anticorpus anti-CD38 are o structură glican biantenară cu conținut de fucoză de aproximativ, între 0% până la aproximativ 15%, de exemplu 15%, 14%, 13%, 12%, 11% 10%, 9%, 8%, 7%, 6%, 5%, 4%, 3%, 2%, 1% sau 0%.

În unele realizări, anticorpus anti-CD38 are o structură glican biantenară cu conținut de fucoză de aproximativ 50%, 40%, 45%, 40%, 35%, 30%, 25%, 20%, 15%, 14%, 13%, 12%, 11% 10%, 9%, 8%, 7%, 6%, 5%, 4%, 3%, 2%, 1% sau 0%.

Substituțiile în Fc și conținutul redus de fucoză poate spori activitatea ADCC a anticorpusului care leagă specific CD38.

„Conținutul de fucoză” înseamnă cantitatea de monozaharidă de fucoză din catena de zahăr la Asn297. Cantitatea relativă de fucoză este procentajul de structuri care conțin fucoză legate la toate glicostucturile. Aceasta poate fi caracterizată și cuantificată prin multiple metode, de exemplu: 1) utilizând MALDI-TOF de mostră tratată cu N-glicozidază F (de exemplu, structuri complexe, hibride și oligo și puternic-manozice) cum s-a descris în Intl. Pat. Publ. nr. WO2008/077546; 2) prin eliberarea enzimatică de glicani Asn297 cu derivatizarea și detecția/cuantificarea ulterioare prin HPLC (UPLC) cu o detecție de fluorescență și/sau HPLC-MS (UPLC-MS); 3) analiza proteinei intacte a mAb-ului nativ sau redus, cu sau fără tratament de glicani Asn297 cu Endo S sau altă enzimă care clivează între prima și a doua monozaharidă GlcNAc, lăsând fucoza atașată la prima GlcNAc; 4) asimilarea mAb la peptida constituentă prin digerare enzimatică (de exemplu, tripsină sau endopeptidază Lis-C), și separarea ulterioară, detecția și cuantificarea prin HPLC-MS (UPLC-MS) sau 5) separarea de oligozaharide mAb din proteina mAb prin deglicozilare enzimatică specifică cu PNGase F la Asn 297. Oligozaharida eliberată poate fi etichetată cu un fluorofor, separată și identificată prin diferite tehnici complementare care permit: caracterizarea fină a structurilor glican prin matrice de spectrometrie de masă cu desorbție de ionizare asistată laser (MALDI) prin compararea maselor experimentale cu masele teoretice, determinarea gradului de sialilare prin schimbare de ioni HPLC (GlicoSep C), separarea și cuantificarea formelor de oligozaharide în conformitate cu criteriile de hidrofilicitate prin fază normală HPLC (GlicoSep N), și separarea și cuantificarea oligozaharidelor prin fluorescență indusă cu laser a electroforezei capilare de înaltă performanță (HPCE-LIF).

„Fucoza scăzută” sau „conținutul scăzut de fucoză” așa cum s-au utilizat în acest document se referă la anticorpi cu conținut de fucoză de aproximativ 0% - 15%.

„Fucoza normală” sau „conținutul normal de fucoză” așa cum s-au utilizat în acest document se referă la anticorpi cu conținut de fucoză de aproximativ peste 50%, de obicei aproximativ peste 60%, 70%, 80% sau peste 85%.

În metodele descrise aici, și în unele realizări, fiecare și oricare dintre realizările numerotate listate mai jos, anticorpus anti-CD38 este de izotip IgG1, IgG2, IgG3 sau IgG4.

Anticorpii care sunt substanțial identici cu anticorpus cuprinzând VH din SEQ ID NO: 4 și VL din SEQ ID NO: 5 pot fi utilizați în metodele divulgate aici. Termenul „substanțial identic” așa cum s-a utilizat în acest document înseamnă că cele două secvențe de aminoacizi VH sau VL ale anticorpusului care sunt comparate sunt identice sau au „diferențe nesubstanțiale”. Diferențele nesubstanțiale sunt substituții de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, sau 15 aminoacizi într-un lanț greu sau lanț ușor al anticorpusului care nu afectează advers proprietățile anticorpusului. Identitatea procentuală poate fi determinată de exemplu prin alinierea pereche utilizând setările implicite ale modulului AlignX al Vector NTI v.9.0.0 (Invitrogen, Carlsbad, CA). Secvențele de proteină din prezenta invenție pot fi utilizate ca secvență de interogare pentru a efectua o căutare împotriva bazelor de date publice sau de brevet pentru a, de exemplu, identifica secvențele înrudite. Exemple de programe utilizate pentru a efectua astfel de căutări sunt programele XBLAST sau BLASTP (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>), sau suita GenomeQuest™ (GenomeQuest, Westborough, MA) utilizând setările implicite. Exemple de substituții care pot fi făcute la anticorpii anti-CD38 utilizați în invenție sunt de exemplu substituțiile conservative cu un aminoacid având caracteristici de încărcare, hidrofobe, sau stereochemice similare. Substituțiile conservative pot fi de asemenea făcute pentru a îmbunătăți proprietățile anticorpusului, de exemplu stabilitatea sau afinitatea, sau pentru a îmbunătăți funcțiile efectoare ale anticorpusului. Pot fi făcute, de exemplu, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, sau 15 substituții de aminoacizi la lanțul greu sau lanțul ușor al anticorpusului anti-CD38. Mai mult, orice reziduu nativ în lanțul greu sau ușor poate fi de asemenea substituit cu alanină, cum s-a descris anterior pentru mutageneza de scanare a alaninei (MacLennan și colab., Acta Physiol Scand Suppl 643:55-67, 1998; Sasaki și colab., Adv Biophys 35:1-24, 1998). Substituțiile dorite de aminoacizi pot fi determinate de către cei calificați în domeniu în momentul când astfel de substituții sunt dorite. Substituțiile de aminoacizi pot fi făcute de exemplu prin mutageneză PCR (Brevetul S.U.A. nr. 4.683.195). Pot fi generate biblioteci de variante utilizând metode bine cunoscute, de exemplu utilizând codoni randomizați (NNK) sau nerandomizați, de exemplu codoni DVK, care codifică 11 aminoacizi

(Ala, Cys, Asp, Glu, Gly, Lys, Asn, Arg, Ser, Tyr, Trp) și analizând bibliotecile pentru variantele cu proprietățile dorite. Variantele generate pot fi testate pentru legarea lor la CD38, abilitatea lor de a induce ADCC, ADCP sau apoptoza, sau modularea activității enzimatică a CD38 *in vitro* utilizând metodele descrise aici.

5 În unele realizări, anticorpus anti-CD38 poate lega CD38 uman cu un interval de afinități (K_D). Într-o realizare conform invenției, și în unele realizări, fiecare și oricare dintre realizările numerotate listate mai jos, anticorpus anti-CD38 se leagă la CD38 cu afinitate ridicată, de exemplu, cu o K_D egală cu, sau mai puțin de aproximativ 10^{-7} M, cum ar fi dar fără a se limita la, 1-9,9 (sau orice interval sau valoare din acesta, cum ar fi 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, sau 9) $\times 10^{-8}$ M, 10^{-9} M, 10^{-11} M, 10^{-11} M, 10^{-12} M, 10^{-11} M, 10^{-14} M, 10^{-15} M sau orice interval sau valoare din acesta, după cum s-a determinat prin rezonanța plasmonică de suprafață sau metoda Kinexa, cum se practică de cei calificați în domeniu. Un exemplu de afinitate este egal cu, sau mai mic de 1×10^{-8} M. Un alt exemplu de afinitate este egal cu, sau mai mic de 1×10^{-9} M.

15 În unele realizări, anticorpus anti-CD38 este un anticorp bispecific. Regiunile VL și/sau VH ale anticorpilor anti-CD38 existenți sau ale regiunilor VL și VH identificate *de novo* cum s-a descris aici, pot fi modificate genetic în anticorpus bispecific cu lungime completă. Astfel de anticorpi bispecifici pot fi făcuți prin modularea interacțiunilor CH3 între lanțurile grele ale anticorpului monospecific pentru a forma anticorpi bispecifici utilizând tehnologii cum ar fi cele descrise în Brevetul S.U.A. nr. 7.695.936; Intl. Pat. Publ. nr. WO04/111233; U.S. Pat. Publ. nr. US2010/0015133; U.S. Pat. Publ. nr. US2007/0287170; Intl. Pat. Publ. nr. WO2008/119353; U.S. Pat. Publ. nr. US2009/0182127; U.S. Pat. Publ. nr. US2010/0286374; U.S. Pat. Publ. nr. US2011/0123532; Intl. Pat. Publ. nr. WO2011/131746; Intl. Pat. Publ. nr. WO2011/143545; sau U.S. Pat. Publ. nr. US2012/0149876. Structuri bispecifice suplimentare în care pot fi încorporate regiunile VL și/sau VH ale anticorpilor invenției sunt de exemplu Imunoglobulinele Domeniului Variabil Dual (Intl. Pat. Publ. nr. WO2009/134776), sau structurile care includ diferite domenii de dimerizare pentru a conecta cele două brațe ale anticorpului cu specificități diferite, cum ar fi fermoarul de leucină sau domeniile de dimerizare ale colagenului (Intl. Pat. Publ. nr. WO2012/022811, Brevetul S.U.A. nr. 5.932.448; Brevetul S.U.A. nr. 6.833.441).

30 De exemplu, anticorpii bispecifici pot fi generați *in vitro* într-un mediu fără celule prin introducerea mutațiilor asimetrice în regiunile CH3 a doi anticorpi homodimerici monospecifici și formarea anticorpului heterodimeric bispecific din doi anticorpi homodimerici monospecifici parentali în condiții reducătoare pentru a permite izomerizarea legăturii disulfură în conformitate cu metodele descrise în Intl. Pat. Publ. nr. WO2011/131746. În metode, primul anticorp bivalent monospecific (de exemplu, anticorpus anti-CD38) și al doilea anticorp bivalent monospecific sunt modificați genetic pentru a avea anumite substituții la domeniul CH3 care promovează stabilitatea heterodimerului; anticorpii sunt incubati împreună în condiții reducătoare suficiente pentru a permite ca cisteinele din regiunea balama să sufere izomerizarea legăturii disulfură; generând prin urmare anticorpus bispecific prin modificarea brațului Fab. Condițiile de incubare pot fi refăcute optim la nereducătoare. Exemple de agenți de reducere care pot fi utilizați sunt 2-mercaptoetilamină (2-MEA), ditiotreit (DTT), ditiotritol (DTE), glutation, tris(2-carboxietil)fosfină (TCEP), L-cisteină și beta-mercaptoetanol, preferabil un agent reducător selectat din grupul constând din: 2-mercaptoetilamină, ditiotreit și tris(2-carboxietil)fosfină. De exemplu, poate fi utilizată incubarea pentru cel puțin 90 min la o temperatură de cel puțin 20°C în prezența a cel puțin 25 mM 2-MEA sau în prezența a cel puțin 0,5 mM ditiotreit la un pH de de la 5-8, de exemplu la pH de 7,0 sau la pH de 7,4.

45 Exemple de mutații CH3 care pot fi utilizate într-un prim lanț greu și într-un al doilea lanț greu al anticorpului bispecific sunt K409R și/sau F405L.

50 Compozițiile farmaceutice ale invenției pot fi utilizate în metode pentru a trata un animal pacient aparținând oricărei clasificări. Exemple de astfel de animale includ mamifere cum ar fi oameni, rozătoare, câini, pisici și animale de fermă.

Terapii de combinație

Compozițiile farmaceutice ale invenției pot fi administrate în combinație cu un al doilea agent terapeutic, sau combinații ale acestora.

55 Al doilea agent terapeutic poate fi melfalan, mecloretamină, tioepa, clorambucil, carmustină (BSNU), lomustină (CCNU), ciclofosamidă, busulfan, dibromomanitol, streptozotocin, dacarbazină (DTIC), procarbazină, mitomicină C, cisplatină și alți derivați de platină, cum ar fi carboplatin, talidomidă sau un analog de talidomidă, lenalidomidă sau CC4047, un inhibitor proteazom, cum ar fi bortezomib sau vinca alcaloid, cum ar fi vincristină sau o antraciclină, cum ar fi doxorubicina.

60 În unele realizări, al doilea agent terapeutic este un inhibitor proteazom.

În unele realizări, inhibitorul proteazom este bortezomib, carfilzomib sau ixazomib.

În unele realizări, al doilea agent terapeutic este un agent de alchilare.

În unele realizări, agentul de alchilare este busulfan, ciclofosfamidă, bendamustină, clorambucil, carboplatin, cisplatin, temozolomidă, melfalan, busulfan, bendamustină, carmustină, lomustină, dacarbazină, oxaliplatin, ifosfamidă, mecloretamină, tiotepa, trabectedin sau streptozocin.

În unele realizări, al doilea agent terapeutic este un derivat de acid glutamic.

În unele realizări, derivatul de acid glutamic este Revlimid® (lenalidomidă), talidomidă sau Pomalyst® (pomalidomidă).

În unele realizări, subiectului îi este administrat suplimentar un corticosteroid.

În unele realizări, corticosteroidul este dexametazonă sau predison.

Al doilea agent terapeutic sau combinații ale acestuia sunt de obicei administrate la dozele recomandate pentru agent.

Compoziția farmaceutică a invenției poate fi administrată simultan sau secvențial cu al doilea agent terapeutic sau combinații ale acestuia.

În timp ce invenția este descrisă în termeni generali, realizările invenției vor fi divulgate în continuare în următoarele exemple care nu trebuie să fie interpretate ca limitative ale domeniului de aplicare al revendicărilor.

Exemplul 1. Livrarea subcutanată a 2% imunoglobulină umană G (IgG) hialuronidază umană recombinantă PH20 (rHuPH20) în modelul pe porcine mici

Rezumat

Porcina mică este un model preclinic care este adecvat pentru evaluarea condițiilor de administrare subcutanată (SC) a bioterapeuticelor din cauza similarității lor anatomice cu pielea umană și translatabilității clinice (Mahj și colab., Exp Toxicol Path 57: 341-5,2006). Obiectivul acestui studiu a fost de a testa și evalua condițiile pentru o administrare de 100 mL a unei soluții IgG umane de 20 mg/mL conținând 200, 500, sau 800 U/mL de rHuPH20 la două debite diferite (2 și 4 mL/min). Obiectivele finale au inclus măsurări cantitative ale presiunii de perfuzie precum și evaluări calitative ale situsului local de perfuzie, cum ar fi dimensiunea umflăturii și fermitatea.

Porcii mici Yucatan au fost perfuzați subcutanat cu 100 mL dintr-o soluție conținând 20 mg/mL de imunoglobulină G (IgG) cu 200, 500, sau 800 U/mL de rHuPH20 la un debit de 2 sau 4 mL/min. Presiunile in-linie în timp real au fost măsurate în timpul perfuziilor. După terminarea perfuziilor, situsurile locale de perfuzie au fost măsurate pentru volumul vizibil al umflăturii și arie dacă este prezentă, și notarea calitativă a situsului de perfuzie pentru prezența și severitatea eritemului, dimensiunea și fermitatea umflăturii/bășicii, și observații generale. Presiunile de perfuzie au fost în general scăzute și au variat de la □ 40 până la 60 mmHg (□ 1 PSI) pentru ambele debite.

Nu au fost diferențe statistice ale presiunii între diferitele concentrații de rHuPH20 și cele două debite diferite, cu presiunea globală fiind puțin mai scăzută la debitul de 2 mL/min după cum s-a așteptat.

Descoperirea neașteptată a fost numărul de perfuzii (10 din 12) care au avut umflături vizibile și măsurabile la situsul de perfuzie pentru debitul mai scăzut de 2 mL/min. Această observație a fost observată la toate cele trei concentrații de rHuPH20. În contrast, numai 3 din 12 perfuzii la debitul mai ridicat de 4 mL/min au condus la umflături locale vizibile și măsurabile. Din nou acest lucru a fost observat la fiecare concentrație de rHuPH20.

În toate cazurile în care umflarea locală a fost vizibilă, umflarea s-a calmat într-o oră. Suplimentar, umflarea locală la situsurile de perfuzie a fost în general moale la atingere și neîntărită, cum s-a indicat prin indicele de umflare/întărire (scor mediu < 2). Prevalența eritemului a fost mai frecventă cu perfuziile la debitul de 2 mL/min; totuși, severitatea globală a eritemului a fost ușoară și complet calmată în ziua următoare. Nici o altă observație generală despre situsurile de perfuzie nu a fost notată în studiu.

În acest studiu au fost evaluate trei concentrații diferite de rHuPH20 (200, 500, sau 800 U/mL), fără diferențe statistice între concentrații pe baza obiectivelor finale ale studiului. Global, debitul mai ridicat de 4 mL/min a condus la frecvența mai scăzută a eritemului, umflarea vizibilă, și fermitatea situsului local de perfuzie decât debitul de 2 mL/min.

Articole de test și metode

Articole de test

Materiale în tamponul formulării:

25mM acetat de sodiu (Spectrum; PN#S0104; Lot#1DI0271)

60 mM clorură de sodiu (Spectrum; PN#S0155; Lot#1CE0421)

140 mM D-manitol (Spectrum; PN#MA165; Lot#1EB0316)

0,04% polisorbat 20 (JT Baker; PN#4116-04; Lot#0000017659)

pH 5,5 (acid acetic glacial la pH; Fisher Scientific; PN#A491-212; Lot#080972)

Materiale în substanța medicamentoasă:

- 5 globulină gama umană (BioMed Supply; PN#HGG-1005; Lot#BMS31309013)
rHuPH20 [(fabricat de Cook Pharmica pentru Halozyme; Halozyme Lot#462-021B (revalidat, Cook Lot#104-001-HSTFIL-9054))]

Formulare

- 10 20 mg/mL IgG au fost coamestecate cu 200, 500, sau 800 U/mL de rHuPH20 cu 4 zile înainte de debutul studiului. Soluțiile au fost alicotate în sticle de sticlă individuale, etanșate cu un opritor, și acoperite prin înfiletare. Toate soluțiile au fost depozitate la 2-8°C până la începutul studiului, dar au fost lăsate să se aclimatizeze la temperatura camerei înainte de perfuzii. Suplimentar, a fost luată o mostră din fiecare formulare pentru testarea activității enzimice a rHuPH20. Rezultatele testului de activitate enzimatică au confirmat că toate soluțiile de dozare au fost în 10% din concentrația țintei (datele nu sunt prezentate).

15 Descrierea animalelor

- Specii: Porc (*Sus scrofa domestica*)
Tulpină: Yucatan miniatură
Sex: Feminin
20 Vârstă: > 3 luni
Greutate: □ 12 kg
Cantitate: 12
Sursă: S&S Ferme (Ramona, CA)

Organizare

- 25 Animalele au fost găzduite în țarcuri de oțel cu apa furnizată automat ad libitum. Animalele au fost alimentate de două ori zilnic (AM și PM), cu excepția zilei de studiu (numai PM). Greutățile corporale ale animalelor au fost luate și înregistrate din ziua de livrare până la o zi după terminarea studiului pentru a evalua sănătatea animalelor. Toate animalele și-au menținut greutatea corporală în această perioadă de timp (datele nu sunt prezentate). Mediul camerei a fost setat pentru a menține o temperatură de □17-27°C și o umiditate relativă de 40-70%, cu un ciclu de 12 ore lumină/12 ore întuneric. Animalele au fost lăsate să se aclimatizeze cu facilitatea timp de 7 zile înainte de debutul studiului.

Materiale de test

- 35 Pompe cu seringă de înaltă presiune (KD Scientific; Holliston, MA)
set de ace cu tuburi de 12 inci cu aripioare pentru perfuzie de 23 ga x ? inci (Terumo Medical Corporation; Somerset, NJ)
seringă cu blocare Luer de 140-cc (Covidien; Mansfield, MA)
set de extensie de 7 inci (B/Braun; Bethlehem, PA)
40 PowerLab 4/30 (AD Instruments; Colorado Arcuri, CO)
traductor de presiune de unică folosință Deltran-1 (Utah Medical Produse; Midvale, UT)
șubler digital (Preisser Messtechnik; Gammertingen, Germania)
Izofluran (Minrad International Company, Orchard Park, NY)
vaporizator de izofluran (VetEquip; Pleasanton, CA)

45 Proiectarea experimentului

- Proiectarea experimentului este rezumată în descrierea cohortelor (**Tabelul 1**) și descriere perfuziilor pe animal (**Tabelul 2**). Pe scurt, 100 mL dintr-o soluție conținând 20 mg/mL IgG coamestecată cu 200, 500, sau 800 U/mL de rHuPH20 a fost administrată în regiunea abdominală a porcilor mici Yucatan anesteziați la un debit de 2 sau 4 mL/min. Obiectivele finale ale studiului au inclus măsurările de presiune a perfuziei utilizând un traductor de presiune în-linie, volumul umflăturii locale post-perfuzie (bășică) și aria (dacă este posibil), și evaluarea calitativă a situsului de perfuzie, incluzând fotografii.

Tabelul 1.

Cohortă	Articol de test	Debit (mL/min)
1	IgG + 200 U/mL rHuPH20	2 mL/min
2	IgG + 500 U/mL rHuPH20	
3	IgG + 800 U/mL rHuPH20	
4	IgG + 200 U/mL rHuPH20	4 mL/min
5	IgG + 500 U/mL rHuPH20	
6	IgG + 800 U/mL rHuPH20	

Tabelul 2.

ID animal	Debit (mL/min)	Partea stângă a perfuziei	Partea dreaptă a perfuziei
1	2	IgG + 200 U/mL rHuPH20	IgG + 500 U/mL rHuPH20
2		IgG + 200 U/mL rHuPH20	IgG + 800 U/mL rHuPH20
3		IgG + 500 U/mL rHuPH20	IgG + 200 U/mL rHuPH20
4		IgG + 500 U/mL rHuPH20	IgG + 800 U/mL rHuPH20
5		IgG + 800 U/mL rHuPH20	IgG + 200 U/mL rHuPH20
6		IgG + 800 U/mL rHuPH20	IgG + 500 U/mL rHuPH20
7	4	IgG + 200 U/mL rHuPH20	IgG + 500 U/mL rHuPH20
8		IgG + 200 U/mL rHuPH20	IgG + 800 U/mL rHuPH20
9		IgG + 500 U/mL rHuPH20	IgG + 200 U/mL rHuPH20
10		IgG + 500 U/mL rHuPH20	IgG + 800 U/mL rHuPH20
11		IgG + 800 U/mL rHuPH20	IgG + 200 U/mL rHuPH20
12		IgG + 800 U/mL rHuPH20	IgG + 500 U/mL rHuPH20
n = 4 perfuzii pe cohortă pe debit			
Fiecare animal a primit 2 perfuzii simultane diferite (una pe fiecare parte laterală opusă) concentrații rHuPH20: 200 U/mL = 20.000 total U; 500 U/mL = 50.000 total U; 800 U/mL = 80.000 total U			
Volum perfuzie 100 mL			
Obiective finale:			
	o presiune in-linie (perfuzie)		
	o Măsurarea volumului și ariei umflăturii/bășicii		
	o Evaluarea calitativă a eritemului și indurației incluzând fotografii		

Procedură de studiu

- Înainte de începutul studiului, animalele au fost evaluate pentru sănătatea generală și s-au colectat greutatea corporală. Pe ziua de studiu, animalele au fost anesteziate cu gaz de izofluran și plasate în poziție culcat pe spate pe o masă chirurgicală încălzită, și au fost menținute sub gaz de izofluran pe întreaga durată a procedurii. Regiunea abdominală a fost curățată cu izopropanol și ștersă uscat cu tifon curat. Situsurile de perfuzie au fost situate pe regiunile abdominale stângă și dreaptă, □ 3-4 cm către linia mediană începând din capătul cranial al plierii inghinale și apoi □ 6 cm cranial. Situsurile de perfuzie au fost marcate cu un marker permanent și apoi fotografiate. Articolele de test au fost acclimatizate la temperatura camerei înainte de perfuzii. Articolele de test au fost extrase într-o seringă de 140 cc (> 100 mL pentru a ține cont de volumul necesar la prima linie). Un traductor de presiune a fost atașat la seringă. Un set de extindere a liniei cu un ac de perfuzie cu aripioare atașat de 23 ga x 3/4 inci a fost apoi atașat la traductor. Feroneria de perfuzie a fost apoi atașată la vârful acului. Seringa a fost încărcată în pompa seringii. Acest procedeu a fost făcut în duplicat, cu fiecare seringă conținând un articol de test diferit. Acele au fost plasate subcutanat în situsurile de perfuzie abdominală marcate stângă și dreaptă ale animalului. Traductorul de presiune in-linie a fost adus la zero. Înregistrările de presiune in-linie au fost începute și apoi cele două pompe ale seringii au început simultan să perfuzeze 100 mL de articole de test la un debit de 2 sau 4 mL/min. După terminarea perfuziilor, colectarea de date de perfuzie in-linie a fost oprită, acele îndepărtate, și gaura de introducere a acului etanșată cu adeziv lichid VetBond pentru a preveni orice scurgere. Aria și volumul umflăturii/bășicii situsului local de perfuzie au fost măsurate utilizând un șubler digital. Situsurile locale de perfuzie au fost de asemenea evaluate calitativ pentru aspect (eritem), dimensiunea umflăturii/bășicii, și fermitate (indurație) utilizând un sistem de notare în 5 puncte (**Tabelul 3, Tabelul 4, și Tabelul 5**, respectiv). În final, au fost luate fotografii ale situsurilor de perfuzie.

Tabelul 3.

Scală	Descriere
0	Nici un eritem
1	Eritem foarte ușor (doar perceptibil)
2	Eritem bine definit
3	Eritem moderat la sever
4	Eritem sever (roșeață închisă) la formarea escarelor ușoare

Tabelul 4.

Scală	Descriere
0	Nici o umflare

Scală	Descriere
1	Umflare foarte ușoară
2	Umflare ușoară
3	Umflare moderată
4	Umflare severă

Tabelul 5.

Scală	Descriere
0	Nici o diferență perceptibilă în fermitate după injecție
1	Foarte puțină fermitate (doar perceptibilă)
2	Fermitate medie
3	Fermitate moderată
4	Foarte ferm

Calculare și metode statistice**Evaluarea presiunii de perfuzie:**

- 5 Presiunile de perfuzie, după cum s-au măsurat prin traductorul în-linie, au fost înregistrate utilizând LabChart 7, și s-a calculat presiunea medie pe întreaga perioadă de perfuzie.

Evaluarea volumului și ariei locale ale umflăturii:

- 10 Volumul și aria umflăturii post-perfuzie au fost măsurate utilizând un șubler digital și înregistrate manual. Măsurătorile au fost înregistrate ca lungime, lățime, și înălțime. Formula pentru o elipsoidă a fost utilizat pentru a calcula volumul. $Volumul = 4/3\pi ABC$, unde A = raza lungimii, B = raza lățimii, C = raza înălțimii. O formulă simplă de lungime x lățime a fost utilizată pentru a calcula aria.

Evaluarea situsurilor locale de perfuzie:

- 15 Situsurile locale de perfuzie au fost evaluate în mod independent de către trei evaluatori separați după terminarea perfuziei. Fiecare evaluator a evaluat pielea la fiecare situs de perfuzie pentru prezența eritemului, dimensiunea umflăturii locale, și fermitate. A fost utilizat un scor pe o scală gradată de la 0 până la 4 pentru a evalua cele trei arii de evaluare, cu un scor de 0 reprezentând nici un efect și 4 fiind sever. Suplimentar, scorurile pentru eritem și umflare au fost utilizate pentru a calcula un indice de iritare primar (PII) utilizând formula $PII = \text{medie} [(\sum \text{de grade de eritem} + \sum \text{de grade de umflare}) \div 2]$. Mai mult, scorurile de umflare și fermitate au fost utilizate pentru a calcula un indice de umflare/indurație (SII) utilizând formula $SII = \text{medie} [(\sum \text{de grade de umflare} + \sum \text{de grade de duritate}) \div 2]$. Un scor SII de ≤ 2 nu a fost considerat a fi indurat.

Analize statistice:

- 25 Comparatiile statistice între cohorte au fost efectuate utilizând o analiză unifactorială a varianței (ANOVA) cu un test de comparații multiple Tukey pentru variabilele continue, și un test neparametric Kruskal-Wallis cu un test de comparații multiple Dunn pentru variabilele categorice. Semnificația statistică a fost determinată a fi $p < 0,05$.

REZULTATE

- 30 **Evaluarea presiunii de perfuzie:**

- 100 mL de 20 mg/mL IgG coamestecați cu 200, 500, sau 800 U/mL de rHuPH20 au fost administrați în regiunea abdominală a porcilor mici Yucatan la un debit de 2 sau 4 mL/min. Perfuziile la un debit de 2 mL/min au condus la presiuni de perfuzie medii de $40,5 \pm 0,1$, $40,0 \pm 0,1$, și $37,1 \pm 0,1$ mmHg $\pm$ SEM pentru IgG coamestecat cu 200, 500, și 800 U/mL de rHuPH20, respectiv. Perfuziile la un debit de 4 mL/min au condus la presiuni medii de $49,9 \pm 0,1$, $55,5 \pm 0,1$, și $61,9 \pm 0,2$ mmHg $\pm$ SEM pentru IgG coamestecat cu 200, 500, și 800 U/mL de rHuPH20, respectiv. Presiunile de perfuzie nu au fost statistic diferite între diferitele concentrații de rHuPH20 pentru fiecare debit și nu au fost statistic diferite între cele două debite.

Evaluarea volumului și ariei locale ale umflăturii:

- 40 După terminarea fiecărei perfuzii, umflarea situsului local de perfuzie a fost marcată dacă a fost vizibilă și măsurată utilizând un șubler digital. Perfuziile la un debit de 2 mL/min au condus la un volum mediu al umflăturii de $36,6 \pm 14,4$, $19,5 \pm 6,5$, și $31,4 \pm 6,0$ cm³ $\pm$ SEM pentru IgG coamestecat cu 200, 500, și 800 U/mL de rHuPH20, respectiv, din care 10 din 12 perfuzii au fost vizibile și măsurabile. Din contră, volumul umflăturii a fost detectat numai în 3 din 12 perfuzii la un debit de 4 mL/min, una la fiecare concentrație de rHuPH20. Volumul local al umflăturii nu a fost diferit statistic între diferitele concentrații de rHuPH20 pentru fiecare debit și nu a fost statistic diferit între cele două debite.

În plus față de calculul volumului, a fost măsurată aria locală post-perfuzie a umflăturii vizibile. Perfuziile la un debit de 2 mL/min au condus la o arie medie a umflăturii de $78,2 \pm 26,4$,

59,7 ± 20,0, și 94,9 ± 9,7 cm² ± SEM pentru IgG coamestecat cu 200, 500, și 800 U/mL de rHuPH20, respectiv. Perfuziile la un debit de 4 mL/min au condus la arii măsurabile ale umflăturii în numai 3 din 12 perfuzii, una la fiecare concentrație de rHuPH20. Ariile locale ale umflăturii nu au fost statistic diferite între diferitele concentrații de rHuPH20 pentru fiecare debit și nu au fost statistic diferite între cele două debite.

Evaluarea situsurilor locale de perfuzie:

După terminarea perfuziilor, situsurile locale de perfuzie au fost notate calitativ, de către trei evaluatori separați, pentru prezența și severitatea eritemului, dimensiunea vizibilă a umflăturii, fermitatea fizică a pielii, indicele de iritare primar (PII) care încorporează eritemul și scorurile de umflare, și indicele de umflare/indurație (SII) care încorporează scorurile de umflare și fermitate pentru a determina dacă indurația a fost prezentă.

A fost evaluată prezența și severitatea eritemului. Perfuziile la un debit de 2 mL/min au condus la un scor mediu al eritemului (± SEM) de 0,8 ± 0,2, 0,4 ± 0,1, și 1,0 ± 0,3 pentru IgG coamestecat cu 200, 500, și 800 U/mL de rHuPH20, respectiv. Perfuziile la un debit de 4 mL/min au condus la un scor mediu al eritemului (± SEM) de 0,3 ± 0,1, 0,3 ± 0,1, și 0,2 ± 0,1 pentru IgG coamestecat cu 200, 500, și 800 U/mL de rHuPH20, respectiv. Scorurile locale ale eritemului nu au fost statistic diferite între diferitele concentrații de rHuPH20 pentru fiecare debit și nu au fost statistic diferite între cele două debite. A fost evaluată dimensiunea umflăturii locale vizibile, și perfuziile la un debit de 2 mL/min au condus la un scor mediu al umflăturii (± SEM) de 1,9 ± 0,4, 1,4 ± 0,3, și 2,0 ± 0,2 pentru IgG coamestecat cu 200, 500, și 800 U/mL de rHuPH20, respectiv. Perfuziile la un debit de 4 mL/min au avut mai puține umflături vizibile cu un scor mediu al eritemului (± SEM) de 0,6 ± 0,3, 0,9 ± 0,4, și 0,9 ± 0,4 pentru IgG coamestecat cu 200, 500, și 800 U/mL de rHuPH20, respectiv. Scorurile umflăturilor locale nu au fost statistic diferite între diferitele concentrații de rHuPH20 pentru fiecare debit și nu au fost statistic diferite între cele două debite, cu excepția IgG + 800 U/mL de rHuPH20 la 2 mL/min debit versus IgG + 200 U/mL de rHuPH20 la 4 mL/min debit ($p < 0,05$). A fost evaluată fermitatea fizică a pielii la situsurile locale de perfuzie, și perfuziile la un debit de 2 mL/min au condus la un scor mediu al fermității (± SEM) de 1,5 ± 0,3, 1,0 ± 0,2, și 1,4 ± 0,2 pentru IgG coamestecat cu 200, 500, și 800 U/mL de rHuPH20, respectiv. Perfuziile la un debit de 4 mL/min au avut mai puțină fermitate la situsul de perfuzie locală cu un scor mediu al fermității (± SEM) de 0,5 ± 0,3, 0,7 ± 0,2, și 0,7 ± 0,3 pentru IgG coamestecat cu 200, 500, și 800 U/mL de rHuPH20, respectiv. Scorurile de fermitate ale situsului de perfuzie local nu au fost statistic diferite între diferitele concentrații de rHuPH20 pentru fiecare debit și nu au fost statistic diferite între cele două debite. Indicele de iritare primar a fost calculat pe baza scorurilor pentru eritem și umflătură. Perfuziile la 2 mL/min au avut un scor PII mediu (± SEM) de 1,4 ± 0,3, 0,9 ± 0,2, și 1,5 ± 0,2 pentru IgG coamestecat cu 200, 500, și 800 U/mL de rHuPH20, respectiv. Perfuziile la un debit de 4 mL/min au avut scoruri PII mai scăzute cu un scor mediu (± SEM) de 0,4 ± 0,2, 0,6 ± 0,3, și 0,5 ± 0,3 pentru IgG coamestecat cu 200, 500, și 800 U/mL de rHuPH20, respectiv. Scorurile PII nu au fost statistic diferite între diferitele concentrații de rHuPH20 pentru fiecare debit și nu au fost statistic diferite între cele două debite, cu excepția IgG + 800 U/mL de rHuPH20 la 2 mL/min debit versus IgG + 200 U/mL de rHuPH20 la 4 mL/min debit ($p < 0,05$). Indicele de umflare/indurație a fost calculat pe baza scorurilor de umflare și fermitate. Perfuziile la 2 mL/min au avut un scor SII mediu (± SEM) de 1,7 ± 0,3, 1,2 ± 0,2, și 1,7 ± 0,2 pentru IgG coamestecat cu 200, 500, și 800 U/mL de rHuPH20, respectiv. Perfuziile la un debit de 4 mL/min au avut scoruri SII mai scăzute cu un scor mediu de 0,6 ± 0,3, 0,8 ± 0,3, și 0,8 ± 0,3 (± SEM) pentru IgG coamestecat cu 200, 500, și 800 U/mL de rHuPH20, respectiv. Scorurile SII nu au fost statistic diferite între diferitele concentrații de rHuPH20 pentru fiecare debit și nu au fost statistic diferite între cele două debite. Pe baza valorilor SII medii (scor de ≤ 2), situsurile de perfuzii locale nu au fost considerate a fi indurate. În cele din urmă, au fost luate fotografii înainte de, și după terminarea fiecărei perfuzii.

Exemplul 2. Un studiu de fază 1b cu etichetă deschisă, multicentru, cu escaladarea dozei pentru a evalua siguranța și farmacocineticele livrării subcutanate de daratumumab cu adăugarea de hialuronidază umană recombinantă (rHuPH20) pentru tratamentul subiecților cu mielom multiplu recidivat sau refractar

Scopul studiului este de a evalua siguranța, farmacocineticele și activitatea antitumorală a livrării subcutanate (SC) sau intravenoase (IV) de daratumumab la participanții cu mielom multiplu recidivat sau refractar. Acesta este un studiu de escaladare/expansiune a dozei de fază 1b, în 2 părți, cu etichetă deschisă, multicentru pentru a evalua siguranța, farmacocineticele și activitatea antitumorală a livrării SC sau IV a daratumumabului la participanții cu mielom multiplu recidivat sau refractar. Vor fi înscrși până la aproximativ 48 de participanți în partea 1 și 80 de participanți în partea 2. Partea 1 a fazei de escaladare a dozei este concepută pentru a determina doza de fază 2 recomandată (RP2D) pe baza datelor de siguranță și farmacocinetice (PK) ale

daratumumabului. Fiecare parte a studiului va avea 3 faze: o fază de analiză, o fază de tratament cu etichetă deschisă și o fază post-tratament (de la doza finală a medicamentului de studiu până la săptămâna 8 post-tratament). În partea 1, participanții vor fi asigurați la cohorte secvențiale de aproximativ 8 participanți în fiecare cohortă. Participanții vor fi dozați cu DARA PH20 (Daratumumab cu adăugare de hialuronidază umană recombinantă [rHuPH20]) prin perfuzie SC o dată săptămânal în ciclurile 1 (fiecare ciclu de 28 zile) și 2, la fiecare 2 săptămâni în ciclurile 3-6, și la fiecare 4 săptămâni în ciclurile ulterioare fiecărei cohorte. După ce ultimul participant în fiecare cohortă completează ciclul 3 ziua 1, Echipa de Evaluare a Siguranței (SET) va evalua siguranța și datele farmacocinetice în conformitate cu criteriile definite prin protocol și va lua decizia dacă escaladează doza la o nouă cohortă. SET va revizui întregile date de siguranță și PK din partea 1 pentru a determina RP2D înainte de începerea părții 2. În partea 2, participanții vor fi randomizați 1:1 pentru a primi doza de fază 2 recomandată de DARA PH20 sau livrarea IV de 1200 mg DARA. Vor fi evaluate siguranța, farmacocineticele, și activitatea antitumorală a livrării SC și IV de daratumumab. Prin studiu va fi monitorizată siguranța participanților.

15 Măsurarea obiectivului principal:

Concentrațiile prin ser (Cprin) de daratumumab (interval de timp: până la partea 2 ciclul 3 (fiecare ciclu de 28 zile) ziua 1). Cprin: concentrația înainte de administrarea medicamentului pentru studiu.

20 Partea 1 și 2: Număr de participanți cu evenimente adverse (AE-uri) și AE-uri serioase (interval de timp: analiza până la următoarea (30 zile după administrarea ultimei doze)

Un eveniment advers (AE) este orice apariție medicală nepotrivită la un participant care a primit medicamentul de studiu fără a ține cont de posibilitatea relației cauzale. Un eveniment advers serios (SAE) este un AE care conduce la oricare din următoarele rezultate sau este considerat semnificativ pentru orice alt motiv: moarte; spitalizare inițială sau prelungită a pacientului; care periclitează experiența de viață (riscul imediat de colorare); dizabilitate/incapacitate persistentă sau semnificativă; anomalie congenitală.

Măsurarea obiectivului secundar:

30 Partea 1 și 2: concentrația de ser de daratumumab și hialuronidază umană recombinantă (rHuPH20) (Plasma) Anticorpi (interval de timp: aproximativ 2 ani). Nivelurile serice ale anticorpilor la daratumumab și rHuPH20 pentru evaluarea imunității potențiale.

Partea 1 și 2: procentajul de participanți cu răspuns complet (CR) (interval de timp: aproximativ 2 ani). CR este definit ca proporția de participanți obținând CR (inclusiv sCR) în conformitate cu criteriile International Myeloma Working Group (IMWG).

35 Partea 1 și 2: procentajul de participanți cu rata globală de răspuns (ORR) (interval de timp: aproximativ 2 ani). Rata globală de răspuns este definită ca procentajul de participanți care obțin răspuns complet sau răspuns parțial în conformitate cu criteriile International Myeloma Working Group, în timpul sau după tratamentul studiului.

40 Partea 1 și 2: durata de răspuns (DR) (interval de timp: aproximativ 2 ani). DR este timpul de la data documentării inițiale a răspunsului (CR sau PR) până la data primului PD documentat, cum s-a definit prin criteriile IMWG.

Partea 1 și 2: timpul până la răspuns (interval de timp: aproximativ 2 ani). Timpul până la răspuns este definit ca timpul din datele din prima doză a tratamentului de studiu până la datele primei documentații a răspunsului observat (CR sau PR).

45 **Tabelul 6** prezintă proiectarea studiului. **Tabelul 7** prezintă intervențiile.

Tabelul 6.

Număr sau Nume braț	Tip	Descriere
Partea 1: Cohorta 1	Experimental	Participanții vor primi DARAPH20, 1200 mg (daratumumab 1200 miligrame (mg) cu hialuronidază umană recombinantă [rHuPH20] 30,000 U) prin perfuzie subcutanată (SC) o dată săptămânal în Ciclurile 1 (fiecare ciclu este de 28 zile) și 2, la fiecare 2 săptămâni în Ciclurile 3-6, și apoi la fiecare 4 săptămâni în cicluri ulterioare până la progresul bolii.
Partea 1: Cohorta 2	Experimental	Participanții vor primi DARAPH20, 1800 mg (daratumumab 1800 miligrame (mg) cu hialuronidază umană recombinantă [rHuPH20] 45,000 U) prin perfuzie SC o dată săptămânal în Ciclurile 1 și 2, la fiecare 2 săptămâni în Ciclurile 3-6, și apoi la fiecare 4 săptămâni în ciclurile ulterioare până la progresul bolii.
Partea 1: Cohorta 3	Experimental	Participanții vor primi DARAPH20 la o doză care va fi decisă de Echipa de Evaluare a Studiului (SET) o dată săptămânal prin perfuzie SC în Ciclurile 1 și 2, la fiecare 2

Număr sau Nume braț	Tip	Descriere
		săptămâni în Ciclurile 3-6, și apoi la fiecare 4 săptămâni în ciclurile ulterioare până la progresul bolii. De asemenea până la trei cohorte opționale suplimentare (Cohortele 3b, 3c, și 3d) pot fi înscrise pentru a repeta un nivel de dozare de daratumumab
Partea 2: Cohorta 4	Experimental	Perfuzia SC DARA-PH20 la RP2D (doza de fază 2 recomandată) care este identificată în Partea 1 va fi administrată participanților prin perfuzie SC o dată săptămânal în Ciclurile 1 și 2, la fiecare 2 săptămâni în Ciclurile 3-6, și apoi la fiecare 4 săptămâni în ciclurile ulterioare până la progresul bolii.
Partea 2: Cohorta 5	Experimental	Daratumumab de 1200 mg va fi administrat participanților intravenos (IV) o dată săptămânal în Ciclurile 1 și 2, la fiecare 2 săptămâni în Ciclurile 3-6, și apoi la fiecare 4 săptămâni în cicluri ulterioare până la progresul bolii.

Tabelul 7.

Nume intervenție	Tip	Brațe asociate	Descriere
Perfuzie subcutanată (SC) cu daratumumab	Medicament	Partea 1: Cohorta 1 Partea 1: Cohorta 2 Partea 1: Cohorta 3 Partea 2: Cohorta 4	Participanții vor primi perfuzie sc cu daratumumab o dată săptămânal în Ciclurile 1 (fiecare ciclu este de 28 zile) și 2, la fiecare 2 săptămâni în Ciclurile 3-6, și la fiecare 4 săptămâni în ciclurile ulterioare.
Perfuzie SC cu hialuronidază umană recombinantă [rHuPH20])		Partea 1: Cohorta 1 Partea 1: Cohorta 2 Partea 1: Cohorta 3 Partea 2: Cohorta 4	Participanții vor primi hialuronidază umană recombinantă [rHuPH20]) împreună cu daratumumab prin perfuzie SC o dată săptămânal în Ciclurile 1 (fiecare ciclu este de 28 zile) și 2, la fiecare 2 săptămâni în Ciclurile 3-6, și la fiecare 4 săptămâni în
Perfuzie intravenoasă (IV) cu daratumumab		Partea 2: Cohorta 5	Participanții vor primi perfuzie IV de 1200 mg de daratumumab o dată săptămânal în Ciclurile 1 (fiecare ciclu de 28 zile) și 2, la fiecare 2 săptămâni în Ciclurile 3-6, și la fiecare 4 săptămâni în ciclurile ulterioare.

Eligibilitate

- 5 Participanți care s-au dovedit a fi simptomatici (având simptome) de mielom multiplu (MM) conform criteriilor de diagnostic ale International Myeloma Working Group (IMWG):

- 10 Boala măsurabilă cum s-a definit prin oricare din următoarele: (a) mielomul G al imunoglobulinei (Ig) (nivelul de monoclonalparaproteină [M-proteină] din ser $\geq 1,0$ grame/decilitru [g/dL] sau nivelul de M-proteină din urină mai mare de, sau egal cu ($\geq$) 200 miligrame[mg]/24 ore[ore]; sau (b) mielomul multiplu IgA, IgD, sau IgE (nivel de M-proteină din ser $\geq 0,5$ g/dL sau nivelul de M-proteină din urină ≥ 200 mg/24 ore); sau (c) mielomul multiplu al lanțului ușor (lanțul ușor fără imunoglobulină din ser ≥ 10 mg/dL și raportul anormal de ser de imunoglobulină kapa lambda liberă a lanțului ușor)

- 15 Participantul trebuie să aibă un scor al stării de performanță al Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG) de 0, 1, sau 2

- 15 Valorile de laborator ale pretratamentului clinic trebuie să îndeplinească parametrii definiți prin protocol în timpul fazei de analiză

- 20 Bărbatul, care este activ sexual cu o femeie care poate rămâne însărcinată și nu a avut o vasectomie, trebuie să fie de acord să utilizeze o metodă de contracepție adecvată ca fiind considerată adecvată de către investigator, și trebuie de asemenea să fie de acord să nu doneze spermă în timpul studiului și la 4 luni după ultima doză de daratumumab.

Criterii de excludere:

- 25 Participantul a primit daratumumab sau alți anti-cluster de terapii de diferențiere 38 (anti-CD38) anterior
- 25 Participantul a primit tratament cu anti-mielom în decursul a 2 săptămâni înainte de Ciclul 1 Ziua 1
- 30 Participantul a primit anterior un transplant alogenic de celulă stem; sau participantul a primit o transplantare autologă de celulă stem (ASCT) în decursul a 12 săptămâni înainte de Ciclul 1 Ziua 1
- 30 Participantul are un istoric de malignitate (altul decât mielomul multiplu) în decursul a 5 ani înainte de Ciclul 1 Ziua 1 (excepțiile sunt carcinoamele celulelor scuamoase și bazale ale pielii

și carcinomul in situ de col uterin, sau malignitatea care în opinia investigatorului, cu acordul monitorului medical al sponsorului, este considerată vindecată cu risc minim de recurență)

Participantul prezintă semne clinice de implicare meningeală a mielomului multiplu

Sexul: ambele

5 Limita de vârstă: 18 ani

Se acceptă voluntari sănătoși: nu

Citire intermediară a Părții 1 (date obținute la 21 IUL 2016 pentru istoricul de siguranță/demografie/boală și la 28 IUL 2016 pentru eficacitatea datelor)

Metode

10 Pacienții au avut RRMM cu ≥ 2 linii de terapie înainte de a include un inhibitor proteazom (PI) și un medicament imunomodulator (IMiD). Partea 1 a studiului din 2 părți a înscris cohorte secvențiale la niveluri de dozare DARA de 1200 mg și 1800 mg pentru a determina doza SC recomandată pentru Partea 2. DARA-PH20 a fost administrat în cicluri de tratament de 4 săptămâni: QW pentru 8 săptămâni, Q2W pentru 16 săptămâni, și apoi Q4W. DARA-PH20 a fost
15 perfuzată în doze de 1200 mg în 60 mL peste 20 min sau de 1800 mg în 90 mL în 30 min, printr-o pompă de seringă la situsuri rotative de pe abdomen. Medicațiile pre și/sau post perfuzie au inclus paracetamol, difenhidramină, montelukast, și metilprednisolon. În partea 2, pacienții vor fi randomizați 1:1 pentru a primi doza recomandată pentru faza 2 (RP2D) a DARA-PH20 SC sau DARA IV (16 mg/kg). RP2D a DARA-PH20 va fi selectat pe baza unei revizii cumulative a
20 datelor de farmacocinetică și siguranță obținute din partea 1 și ar trebui să se obțină un Cprin maxim al serului în timpul dozării săptămânale care este similar cu, sau mai ridicat decât cel observat pentru doza aprobată de 16 mg/kg IV. Obiectivele finale principale au fost Cprin al DARA până la Ciclul 3 Ziua 1 și siguranța. Obiective finale secundare au inclus rata globală de răspuns (ORR).

Rezultate

25 Până în prezent, 41 de pacienți au fost tratați în partea 1 cu DARA-PH20 SC la niveluri de dozare de 1200 mg (n=8) și 1800 mg (n=33). Reacțiile legate de perfuzie (IRR-uri) au fost raportate la 9/41 pacienți (22%) și cele mai multe au fost de grad 1/2 în severitate incluzând răceală, febră, severitate, vomă, mâncărime, edem al limbii, dureri de piept necardiace și șuierare.
30 Un pacient a dezvoltat dispnee de gradul 3 și 1 pacient a necesitat spitalizare din cauza febrei și răcelii (ambele de grad 2) după prima perfuzie. Toate IRR-urile s-au dezvoltat în timpul sau la 6 ore după prima perfuzie SC și au fost controlate cu tratament cu antihistamină, corticosteroid, antiemetic, sau bronhodilatator. Nici un IRR nu a fost raportat la perfuziile ulterioare. Per global, profilul advers al evenimentului de DARA-PH20 a fost consistent cu cel al DARA IV. Gradul 3 sau mai ridicat în legătură cu evenimentele adverse ale medicamentului a fost raportat la 5/41
35 (12%) pacienți incluzând oboseală (2 pacienți), gripă, hipertensiune, dispnee, și sindrom de lizare tumorală. Administrarea SC a DARA-PH20 a fost bine tolerată la situsul de injectare al peretelui abdominal cu 3/41 (7%) pacienți raportând eritem de grad 1, indurație, sau senzație de ardere. Analiza a prezentat un Cprin max mai ridicat la cohorta de 1800 mg în comparație cu Cprin max obținut după DARA IV (16 mg/kg).
40

La cohorta de 1200 mg de 8 pacienți (medie de 5 linii înainte de terapie [interval 2-10]; înainte de ASCT, 63%; doar PI refractar, 0%; doar IMiD refractar, 13%; dublu refractar la PI și IMiD, 63%) un ORR de 25% a fost observat incluzând 2 răspunsuri parțiale (PR). Timpul mediu de răspuns a fost de 14 (interval 8-20) săptămâni. Dintre evaluările a 17 pacienți cu răspunsul
45 evaluabil în cohorta de 1800 mg cu ciclul 3 ziua 1 (medie de 4 linii înainte de terapie [interval 2-7]; înainte de ASCT, 76%; doar PI refractar, 6%; doar IMiD refractar, 12%; dublu refractar la PI și IMiD, 65%) un ORR de 41% a fost observat constând din 3 foarte bune răspunsuri parțiale și 4 PR-uri. Timpul mediu de răspuns a fost de 4 (interval 4-8) săptămâni.

Concluzii:

50 DARA-PH20 SC a fost bine tolerată și a obținut concentrații prin ser similare cu, sau mai mari decât DARA IV cu o rată mai scăzută de IRR-uri în comparație cu DARA IV pe o durată de timp de perfuzie semnificativ mai scurtă. Datele preliminare sugerează că în această populație de pacienți, DARA-PH20 SC poate permite o rată de răspuns similară cu a monoterapiei DARA IV. Nivelul de dozare de 1800 mg al DARA-PH20 a fost selectat ca RP2D pentru partea 2 a studiului.
55 Aceste date timpurii susțin mai departe studiul DARA SC în studiile clinice.

Exemplul 3. Dezvoltarea de coformulări ale daratumumabului și hialuronidazei

Au fost evaluate diferite coformulări pentru a stabili stabilitatea fizico-chimică globală și livrarea de daratumumab și rHuPH20 în produsul coformulat. Impactul concentrațiilor de
60 constituent activ și/sau al excipienților în formulări a fost evaluat în unele studii de stabilitate și/sau pe animale (stabilitate la raft, stabilitate la agitare și în studii de perfuzie pe porci). **Tabelul 8** furnizează un rezumat al formulărilor care au fost utilizate în diferite studii.

Tabelul 8.

Formulare	Daratumumab (mg/mL)	rHuPH20 (U/mL)	His (mM)	Sorbitol/ zaharoză (mM)	PS20 (%m/v)	Met (mg/mL)	pH
1	100	500	10	300	0,04	2	5,5
2	120	2000	10	300	0,04	1	5,6
3	100	500	10	300	0,0	2	5,5
4	100	500	10	300	0,01	2	5,5
5	100	500	10	300	0,02	2	5,5
6	100	500	10	300	0,06	2	5,5
7	100	0	10	200/100	0,04	0	5,5
8	100	0	10	100/200	0,04	0	5,5
9	100	50	10	300	0,04	1	5,5
10	100	500	10	300	0,04	1	5,5
11	100	2000	10	300	0,04	1	5,5
12	100	5000	10	300	0,04	1	5,5
His: histidină							
Met: metionină							

Intervalele excipienților și constituenților activi în formulările testate sunt prezentate în **Tabelul 9.**

5 Tabelul 9.

Componentă formulată	Interval
rHuPH20	0-2000 U/mL
Daratumumab	100-120 mg/mL
Histidină	10 mM
Sorbitol	100-300 mM
Zaharoză	0-200 mM
Polisorbat-20 (PS20)	0,0-0,04 % (m/v)
Metionină	0 - 2 mg/mL

Formulările generate au fost testate în diferite teste pentru caracteristicile lor, incluzând evaluarea particulelor sub-vizibile, imagistică de micro flux (MFI), cromatografie de excludere dimensională (SEC), focalizare izoelectrică capilară (cIEF), SDS-PAGE (nereducătoare și 10 reducătoare), mapare de peptidă, volum extractabil, turbiditate, osmolalitate, și pH.

Particule sub-vizibile (Sub-vis): Numărul de particule sub-vizibile cu dimensiunea de $\geq 10 \mu\text{m}$ sau $\geq 25 \mu\text{m}$ este uzual agregat de molecule de proteină și poate fi testat prin metoda HIAC de obscurizare a luminii în care soluția este trecută printr-un mic orificiu și blocarea luminii 15 furnizează informația despre dimensiunea particulei care trece prin acesta.

MFI: O ortogonală la metoda de obscurizare a luminii, imagistica de micro flux (MFI) ia instantanee de imagini ale particulelor curgând și le retransformă înapoi în numărul de particule 20 prezente într-un volum particular de lichid. Această metodă furnizează informația despre agregatele mari de proteine prezente în soluție.

SEC: o metodă de separare cromatografică prin excludere de dimensiune în care o coloană este utilizată pentru a distribui moleculele în soluția care curge în conformitate cu 25 intervalul lor larg de dimensiuni. Monomerii, agregatele și fragmentele eluează la diferite momente din coloană și prin urmare proporțiile lor relative într-o mostră pot fi cuantificate utilizând un detector UV standard.

cIEF: Focalizarea izoelectrică capilară distribuie moleculele în conformitate cu încărcarea 30 pe moleculă și este un bun indicator al stabilității chimice globale. De exemplu deamidarea poate conduce la o modificare în încărcarea moleculei și astfel ar fi preluată prin această metodă. Metoda furnizează o idee despre % de aciditate totală, bazicitate și integritate ale moleculelor prezente în soluție.

SDS (condiții reducătoare și nereducătoare): metoda SDS furnizează informația despre 35 stabilitatea fizică a moleculei. SDS furnizează o măsură a speciilor intacte, agregate și fragmentate prezente în soluție. SDS nereducătoare furnizează informația despre respectivii constituenți intacti, agregați și fragmentați ai anticorpului în timp ce SDS reducătoare (după întreruperea disulfurii) furnizează aceeași informație pentru lanțurile grele și ușoare ale anticorpului.

Maparea peptidei: maparea peptidei este o tehnică esențială pentru studierea structurii 35 primare a proteinelor. Pentru farmaceuticele din proteină recombinantă, maparea peptidei este

utilizată pentru dovada inițială a caracterizării structurii. Maparea peptidei furnizează de asemenea informația despre modificările post translaționale cum ar fi deamidarea, oxidarea etc.

Volum extractabil: metoda furnizează informația despre cantitatea/volumul de lichid care poate fi extrasă din fiolă după momentul de timp respectiv.

- 5 Turbiditate: o metodă pe baza difuziei luminii pentru a evalua stabilitatea fizică a soluției. O creștere în dimensiunea particulelor sau agregatelor conduce la o creștere în semnalul de difuzie al luminii și este prin urmare preluat ca turbiditate (opalescență) a soluției. Turbiditatea este măsurată în unități de turbiditate nefelometrică (NTU).

- 10 Osmolalitate: furnizează o măsură a activității osmotice totale care este dependentă de activitatea adevărată totală a moleculelor (coeficientul de activitate multiplicat cu concentrația). Soluția trebuie să fie aproape de osmolalitatea serului pentru a fi injectabilă.

pH: furnizează o idee asupra stabilității globale și este important că pH-ul rămâne constant pe durata de valabilitate.

- 15 Activitatea enzimatică a rHuPH20: determinarea activității hialuronidazei este pe baza formării unui precipitat când acidul hialuronic (HA) se leagă cu serul acidulat. Activitatea este măsurată prin incubarea hialuronidazei cu HA timp de 30 minute într-o placă cu 96 de godeuri formată la 37°C și apoi precipitarea HA nedigerat cu adăugarea de ser acidulat. Turbiditatea rezultată este măsurată la 640 nm și scăderea în turbiditate care rezultă din clivarea enzimatică a substratului HA este o măsură a activității hialuronidazei.

- 20 Stabilitatea la raft a Formulării 1 (100 mg/mL Daratumumab, 10 mM Histidină, 300 mM Sorbitol, 0,04 % PS20, 2mg/mL Metionină, 500U/mL PrHuh20, pH 5,5) a fost evaluată utilizând testele descrise. Mostre au fost puse pentru stabilitate în fiole 25R (umplute la 16 mL volum) la diferite temperaturi (5, 25 și 40°C) și fiolele au fost extrase pentru analiză utilizând diferite teste la diferite momente de timp (0, 1, 2, 3, 4, 5 și/sau 6 luni). Datele indică faptul că produsul coformulat este stabil în condiții de depozitare atât față de daratumumab cât și față de rHuPH20 cum s-a indicat prin diferite teste. Profilul cum s-a observat pentru particule, culoarea, turbiditatea, sec etc. a fost foarte similar cu cel al anticorpilor stabili care s-au comportat bine și datele sunt comparabile cu datele de stabilitate dintr-unele formulări de mAb comerciale.

- 30 **Tabelul 10** prezintă numărul de particule în Formularea 1 în timp ce este evaluată utilizând HIAC.

Tabelul 11 prezintă numărul de particule în Formularea 1 în timp ce este evaluată utilizând MFI.

Tabelul 12 prezintă pH-ul Formulării 1 în timp.

Tabelul 13 prezintă turbiditatea Formulării 1 în timp.

- 35 **Tabelul 14** prezintă proporția de agregate cu masă moleculară mare și de fragmente cu masă moleculară mică în Formularea 1 în timp.

Tabelul 15 prezintă speciile acide și bazice în Formularea 1 în timp ce este evaluată utilizând cIEF.

Tabelul 16 prezintă procente (%) de puritate ale Formulării 1 în timp ce este evaluată utilizând SDS-PAGE redusă.

- 40 **Tabelul 17** prezintă procente (%) de puritate ale Formulării 1 în timp ce este evaluată utilizând SDS-PAGE neredusă.

Tabelul 18 prezintă procente (%) de bioactivitate ale activității daratumumabului și enzimei de rHuPH20 în Formularea 1 în timp.

- 45 **Tabelul 10.**

Temperatură de depozitare (°C)	Număr mediu cumulat/mL de particulă de dimensiuni $\geq 10\mu\text{M}$ sau $\geq 25\mu\text{M}$					
	0 luni		3 luni		6 luni	
	$\geq 10\mu\text{m}$	$\geq 25\mu\text{m}$	$\geq 10\mu\text{m}$	$\geq 25\mu\text{m}$	$\geq 10\mu\text{m}$	$\geq 25\mu\text{m}$
5	7,17	6,33	6,5	4,8	42,50	30,83
25	7,17	6,33	5,5	1,8	110,50	81,83
40	7,17	6,33	64,5	44,8		

Tabelul 11.

	0 luni	3 luni			6 luni	
Temperatură (°C)	5	5	25	40	5	25
Particule/mL $\geq 2 - < 10\mu\text{m}$ ECD	539	1155	3668	3371	686	3581
Particule/mL $\geq 10 - < 25\mu\text{m}$ ECD	9,3	39	93	80	36	105
Particule/mL $\geq 25 - < 70\mu\text{m}$ ECD	1,4	2,6	13	9,3	7,4	7,2
Particule/mL $\geq 70\mu\text{m}$ ECD	0,5	0,2	0,2	0,2	0,0	0,5

Tabelul 12.

Temperatură de depozitare (°C)	pH pe timp de depozitare (luni)				
	0m	1m	2m	3m	6m
5	5,7	NA	5,7	5,7	5,6
25	5,7	5,7	5,7	5,7	5,6
40	5,7	5,7	5,6	5,7	NA
m: lună					
NA: neanalizată					

Tabelul 13.

Temperatură de depozitare (°C)	NTU mediu pe timp de depozitare (luni)				
	0m	1m	2m	3m	6m
5	3,5		3,5	3,5	3,4
25	3,5	3,5	3,6	3,7	4,6
40	3,5	4	5,5	8,2	NA
m: lună					
NTU: unități de turbiditate nefelometrice					
NA: neanalizată					

5 **Tabelul 14.**

Timp de depozitare (luni)	Temperatură de depozitare (°C)	Procentaj (%) de specii		
		HMW	Monomer	LMW
0	5	0,74	99,25	0,01
	25	0,74	99,25	0,01
	40	0,74	99,25	0,01
3	5	0,84	99,16	0,02
	25	1,11	98,75	0,14
	40	1,87	94,50	3,64
6	5	0,89	99,10	NA
	25	1,30	98,38	NA
	40	NA	NA	NA
HMW: specii cu masă moleculară mare				
LMW: specii cu masă moleculară mică				
NA: neanalizată				

Tabelul 15.

Timp de depozitare (luni)	Temperatură de depozitare (°C)	% Maxim principal	% Maxim acid	% Maxim bazic
0	5	69,2	27,8	3
	25	69,2	27,8	3
	40	69,2	27,8	3
3	5	68,2	28,9	2,9
	25	63	32,8	4,2
	40	31,3	60,2	8,5
6	5	68,1	28,7	3,2
	25	55,4	38	6,6
	40	NA	NA	NA
NA: neanalizată				

Tabelul 16

Temperatură de depozitare (°C)	%Puritate pe timp de depozitare (in luni)				
	0m	1m	2m	3m	6m
5	98,16	NA	97,96	98	98,02
25	98,16	97,87	97,66	97,57	96,75
40	98,16	96,4	95	92,88	NA
m: lună					
NA: neanalizată					

Tabelul 17.

Temperatură de depozitare (°C)	%Puritate pe timp de depozitare (în luni)				
	0	1	2	3	6
5	97,56		97,64	97,64	97,5
25	97,56	97,27	96,97	96,62	95,63
40	97,56	94,84	92,61	89,37	NA
m: lună					
NA: neanalizată					

Tabelul 18.

Moleculă	Test	Timp de depozitare și temperatură		
		0 luni	6 luni	6 luni
			5°C	25°C
Daratumumab	ADCC*	102	103	83
	CDC*	95	101	93
PH20	Enzimatică activitate**	574	600 sau 584?	609
*Procente control				
**U/mL				

- 5 Stabilitatea la agitare (agitare) a Formulării 1 a fost de asemenea evaluată utilizând testele de mai sus pentru a caracteriza formulările și a studia impactul concentrațiilor PS variind chiar concentrațiile PS20 în acea formulare (Formulările 1, 3, 4, 5 și 6 în **Tabelul 8** unde PS20 a fost variat până la 0, 0,01, 0,02, 0,04, 0,06 %). Datele au indicat că coformularea a fost stabilă în condiții de agitare atât față de daratumumab cât și față de enzimă cum s-a indicat prin diferite
- 10 teste. Profilul cum s-a observat pentru particule, culoare, turbiditate, sec etc. a fost foarte similar cu cel al anticorpilor stabili care s-au comportat bine pentru toate concentrațiile de PS dar 0 % (0% din formularea PS20 a avut particule și nu a fost stabilă) și datele au fost comparabile cu datele de stabilitate dintr-unele formulări mAb comerciale (datele nu sunt prezentate).
- 15 Stabilitatea la raft a Formulării 2 (120 mg/mL daratumumab, 10 mM Histidină, 300 mM Sorbitol, 0,04 % PS20, 1 mg/mL Metionină, 2000U/mL rhuPH20, pH 5,5) a fost evaluată utilizând testele descrise. Mostrele au fost puse pentru stabilitate în fiole 25R umplute la 13,27 mL volum cu revărsare (1500 mg doză) la diferite temperaturi și fiolele au fost extrase pentru analiză utilizând diferite teste ca mai jos. Datele colectate au indicat că produsul coformulat este stabil în condiții de depozitare atât față de daratumumab cât și de asemenea față de rHuPH20. Profilul cum
- 20 s-a observat pentru particule, culoarea, turbiditatea, sec etc. a fost foarte similar cu cel al anticorpilor stabili care s-au comportat bine și datele au fost comparabile cu datele de stabilitate ale unor formulări mAb comerciale. rhuPH20 este foarte sensibil la temperaturi mai ridicate și își pierde toată activitatea foarte rapid când este depozitat la 40°C. **Tabelul 19** prezintă caracteristicile formulării.

Tabelul 19.

Caracteristici și/sau test	Timp de depozitare, temperatură și umiditate relativă (RH)		
	0 luni	1 lună	1 lună
	5°C	40°C/ 75%RH	25°C/ 60%RH
Număr mediu cumulat/mL de particulă de dimensiuni 2-10 µm	58,89	375,68	4285,81
Număr mediu cumulat/mL de particulă de dimensiuni 10-25 µm	3,34	12,96	1,98
Număr mediu cumulat/mL de particulă de dimensiuni ≥25 µm	1,23	0,49	0,12
PS20 (% m/v)	0,038	0,02	0,03
pH	5,6	5,6	5,6
Turbiditate (NTU)	5	11	6
% Puritate (cSDS, reducător)	98,4	98,6	98,1
% AGHC, lanț greu aglicozilat (cSDS, reducător)	0,4	0,5	0,4
% Puritate (cSDS, nereducător)	97,7	95,2	97,7
% monomer, SE-HPLC	99,1	98,0	98,8
% agregat, SE-HPLC	0,9	1,6	1,1

	Timp de depozitare, temperatură și umiditate relativă (RH)		
Caracteristici și/sau test	0 luni	1 lună	1 lună
	5°C	40°C/ 75%RH	25°C/ 60%RH
% fragmente SE-HPLC	<0,10	0,4	<0,10
Bioactivitate daratumumab, CDC (% control)	105	88	99
Bioactivitate daratumumab, ADCC (% control)	99	73	103
Activitate rhuPH20 (U/mL)	2205	0	2258

Formulările 3-8 au fost testate pentru stabilitatea lor la raft sau stabilitatea la agitare utilizând unele sau toate testele descrise. Datele au indicat că formulările 3-8 au fost stabile în condițiile evaluate atât față de daratumumab cât și față de HuPH20 (formulările 7 și 8 nu au avut rHuPH20). Metionina a fost inclusă în formulările 1-6 și 9-12 pentru a furniza stabilitate la oxidare adăugată. Profilul cum s-a observat pentru particule, culoare, turbiditate, sec etc. a fost foarte similar cu cel al anticorpilor stabili care s-au comportat bine și datele au fost comparabile cu datele de stabilitate dintr-unele formulări mAb comerciale (datele nu sunt prezentate).

Stabilitatea la agitare (agitare) a Formulării 1 a fost de asemenea evaluată utilizând testele de mai sus pentru a caracteriza formulările și a studia impactul concentrațiilor PS20 variind chiar concentrațiile PS20 în acea formulare (Formulările 1, 3, 4, 5 și 6 în **tabelul 8** unde PS20 a fost variat până la 0, 0,01, 0,02, 0,04, 0,06 %). Datele au indicat că coformularea a fost stabilă în condiții de agitare atât față de daratumumab cât și față de rHuPH20 cum s-a indicat prin diferite teste. Profilul cum s-a observat pentru particule, culoare, turbiditate, sec etc. a fost foarte similar cu cel al anticorpilor stabili care s-au comportat bine pentru toate concentrațiile de PS dar 0 % și datele au fost comparabile cu datele de stabilitate dintr-unele formulări mAb comerciale (datele nu sunt prezentate).

Formulările 9-12 au fost de asemenea evaluate pentru evaluarea administrării subcutanate a daratumumabului cu concentrații variabile de enzimă într-un model pe porcine cum s-a descris în Exemplul 2. Aceste studii au fost efectuate pentru a determina o concentrație adecvată de rhPH20 pentru a livra 16 mL de daratumumab. Obiectivele finale au fost presiunea de perfuzie, aria umflăturii sau bășicii dacă a fost măsurabilă și evaluarea calitativă a situsului. S-a observat creșterea dependentă de doză în presiunea de perfuzie. Toate concentrațiile rhPH20 testate (50, 500, 2000, 5000 U/mL au fost suficiente pentru a livra 16 mL de daratumumab.

LISTĂ DE SECVENȚE

<110> Janssen Biotech, Inc. Jansson, Richard Kumar, Vineet
 <120> Formulări subcutanate de anticorpi anti-CD38 și utilizările acestora
 <130> JBI5070WOPCT
 <140> Pentru a fi asignat
 <141> 2016-11-01
 <150> 62/250.016
 <151> 2015-11-03
 <160> 22
 <170> Versiune patentln 3.5
 <210> 1
 <211> 300
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 1

MD/EP 3370770 T2 2021.05.31

38

Met	Ala	Asn	Cys	Glu	Phe	Ser	Pro	Val	Ser	Gly	Asp	Lys	Pro	Cys	Cys	1	5	10	15
Arg	Leu	Ser	Arg	Arg	Ala	Gln	Leu	Cys	Leu	Gly	Val	Ser	Ile	Leu	Val	20	25	30	
Leu	Ile	Leu	Val	Val	Val	Leu	Ala	Val	Val	Val	Pro	Arg	Trp	Arg	Gln	35	40	45	
Gln	Trp	Ser	Gly	Pro	Gly	Thr	Thr	Lys	Arg	Phe	Pro	Glu	Thr	Val	Leu	50	55	60	
Ala	Arg	Cys	Val	Lys	Tyr	Thr	Glu	Ile	His	Pro	Glu	Met	Arg	His	Val	65	70	75	80
Asp	Cys	Gln	Ser	Val	Trp	Asp	Ala	Phe	Lys	Gly	Ala	Phe	Ile	Ser	Lys	85	90	95	
His	Pro	Cys	Asn	Ile	Thr	Glu	Glu	Asp	Tyr	Gln	Pro	Leu	Met	Lys	Leu	100	105	110	
Gly	Thr	Gln	Thr	Val	Pro	Cys	Asn	Lys	Ile	Leu	Leu	Trp	Ser	Arg	Ile	115	120	125	
Lys	Asp	Leu	Ala	His	Gln	Phe	Thr	Gln	Val	Gln	Arg	Asp	Met	Phe	Thr	130	135	140	

Leu Glu Asp Thr Leu Leu Gly Tyr Leu Ala Asp Asp Leu Thr Trp Cys
145 150 155 160

Gly Glu Phe Asn Thr Ser Lys Ile Asn Tyr Gln Ser Cys Pro Asp Trp
165 170 175

Arg Lys Asp Cys Ser Asn Asn Pro Val Ser Val Phe Trp Lys Thr Val
180 185 190

Ser Arg Arg Phe Ala Glu Ala Ala Cys Asp Val Val His Val Met Leu
195 200 205

Asn Gly Ser Arg Ser Lys Ile Phe Asp Lys Asn Ser Thr Phe Gly Ser
210 215 220

Val Glu Val His Asn Leu Gln Pro Glu Lys Val Gln Thr Leu Glu Ala
225 230 235 240

Trp Val Ile His Gly Gly Arg Glu Asp Ser Arg Asp Leu Cys Gln Asp
245 250 255

Pro Thr Ile Lys Glu Leu Glu Ser Ile Ile Ser Lys Arg Asn Ile Gln
260 265 270

Phe Ser Cys Lys Asn Ile Tyr Arg Pro Asp Lys Phe Leu Gln Cys Val
275 280 285

Lys Asn Pro Glu Asp Ser Ser Cys Thr Ser Glu Ile
290 295 300

<210> 2

<211> 14

<212> PRT

5 <213> Homo sapiens

<400> 2

Ser Lys Arg Asn Ile Gln Phe Ser Cys Lys Asn Ile Tyr Arg

1 5 10

<210> 3

<211> 14

10 <212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 3

Glu Lys Val Gln Thr Leu Glu Ala Trp Val Ile His Gly Gly

1 5 10

<210> 4

15 <211> 122

<212> PRT

<213> Secvență artificială

<220>

<223> daratumumab VH

20 <400> 4

MD/EP 3370770 T2 2021.05.31

40

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Val Ser Gly Phe Thr Phe Asn Ser Phe
20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Gly Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys
85 90 95

Ala Lys Asp Lys Ile Leu Trp Phe Gly Glu Pro Val Phe Asp Tyr Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 5

<211> 107

<212> PRT

5 <213> Secvență artificială

<220>

<223> daratumumab VL

<400> 5

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
35 40 45

10

Tyr Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Ser Asn Trp Pro Pro
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 6

<211> 5

<212> PRT

15 <213> Secvență artificială

<220>

<223> daratumumab HCDR1

<400> 6

Ser Phe Ala Met Ser
 1 5
 <210> 7
 <211> 17
 <212> PRT
 5 <213> Secvență artificială
 <220>
 <223> Daratumumab HCDR2
 <400> 7
 Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Gly Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 1 5 10 15

 Gly
 10 <210> 8
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> Secvență artificială
 <220>
 15 <223> Daratumumab HCDR3
 <400> 8
 Asp Lys Ile Leu Trp Phe Gly Glu Pro Val Phe Asp Tyr
 1 5 10
 <210> 9
 <211> 11
 20 <212> PRT
 <213> Secvență artificială
 <220>
 <223> Daratumumab LCDR1
 <400> 9
 Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr Leu Ala
 25 1 5 10
 <210> 10
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Secvență artificială
 30 <220>
 <223> DASNRAT
 <400> 10
 Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr
 1 5
 <210> 11
 35 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secvență artificială
 <220>
 <223> Daratumumab LCDR3
 40 <400> 11
 Gln Gln Arg Ser Asn Trp Pro Pro Thr Phe
 1 5 10
 <210> 12
 <211> 452
 <212> PRT
 45 <213> Secvență artificială
 <220>
 <223> Lanț greu daratumumab
 <400> 12

MD/EP 3370770 T2 2021.05.31

42

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Val Ser Gly Phe Thr Phe Asn Ser Phe
 20 25 30
 Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Gly Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys
 85 90 95
 Ala Lys Asp Lys Ile Leu Trp Phe Gly Glu Pro Val Phe Asp Tyr Trp
 100 105 110
 Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
 115 120 125
 Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr
 130 135 140
 Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
 145 150 155 160
 Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
 165 170 175
 Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
 180 185 190
 Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn
 195 200 205
 His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser
 210 215 220
 Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
 225 230 235 240
 Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
 245 250 255
 Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
 260 265 270
 His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
 275 280 285
 Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
 290 295 300

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
305 310 315 320

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
325 330 335

Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
340 345 350

Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val
355 360 365

Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
370 375 380

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
385 390 395 400

Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
405 410 415

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
420 425 430

Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
435 440 445

Ser Pro Gly Lys
450

<210> 13

<211> 214

<212> PRT

5 <213> Secvență artificială

<220>

<223> Lanț ușor daratumumab

<400> 13

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Ser Asn Trp Pro Pro
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 14

<211> 122

<212> PRT

5 <213> Secvență artificială

<220>

<223> mAb 003 VH

<400> 14

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Phe Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

MD/EP 3370770 T2 2021.05.31

45

35

40

45

Gly Arg Val Ile Pro Phe Leu Gly Ile Ala Asn Ser Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Asp Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Asp Asp Ile Ala Ala Leu Gly Pro Phe Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser
115 120

<210> 15

<211> 107

<212> PRT

5 <213> Secvență artificială

<220>

<223> mAb 003 VL

<400> 15

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Glu Lys Ala Pro Lys Ser Leu Ile
35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Arg
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

10 <210> 16

<211> 122

<212> PRT

<213> Secvență artificială

<220>

15 <223> mAb024 VH

<400> 16

MD/EP 3370770 T2 2021.05.31

46

Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Glu
1 5 10 15

Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ser Phe Ser Asn Tyr
20 25 30

Trp Ile Gly Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Ile Ile Tyr Pro His Asp Ser Asp Ala Arg Tyr Ser Pro Ser Phe
50 55 60

Gln Gly Gln Val Thr Phe Ser Ala Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg His Val Gly Trp Gly Ser Arg Tyr Trp Tyr Phe Asp Leu Trp
100 105 110

Gly Arg Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 17

<211> 107

<212> PRT

5 <213> Secvență artificială

<220>

<223> mAb 024 VL

<400> 17

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Gly Leu Leu Ile
35 40 45

10 Tyr Asp Ala Ser Asn Arg Ala Ser Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Ser Asn Trp Pro Leu
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 18

<211> 120

<212> PRT

15 <213> Secvență artificială

<220>

<223> MOR202 VH

<400> 18

MD/EP 3370770 T2 2021.05.31

47

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Tyr Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Gly Ile Ser Gly Asp Pro Ser Asn Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Asp Leu Pro Leu Val Tyr Thr Gly Phe Ala Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 19

<211> 109

<212> PRT

5 <213> Secvență artificială

<220>

<223> MR0202 VL

<400> 19

Asp Ile Glu Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ala Pro Gly Gln
1 5 10 15

Thr Ala Arg Ile Ser Cys Ser Gly Asp Asn Leu Arg His Tyr Tyr Val
20 25 30

Tyr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Ile Tyr
35 40 45

Gly Asp Ser Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Gly Thr Gln Ala Glu
65 70 75 80

Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Thr Tyr Thr Gly Gly Ala Ser Leu
85 90 95

Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gln
100 105

10 <210> 20

<211> 120

<212> PRT

<213> Secvență artificială

<220>

15 <223> Izatuximab VH

<400> 20

MD/EP 3370770 T2 2021.05.31

48

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Ala Lys Pro Gly Thr
1 5 10 15

Ser Val Lys Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
20 25 30

Trp Met Gln Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Thr Ile Tyr Pro Gly Asp Gly Asp Thr Gly Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Lys Thr Val Tyr
65 70 75 80

Met His Leu Ser Ser Leu Ala Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Gly Asp Tyr Tyr Gly Ser Asn Ser Leu Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 21

5 <211> 107

<212> PRT

<213> Secvență artificială

<220>

<223> Izatuximab VL

10 <400> 21

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser His Leu Ser Met Ser Thr Ser Leu Gly
1 5 10 15

Asp Pro Val Ser Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asp Val Ser Thr Val
20 25 30

Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Arg Arg Leu Ile
35 40 45

Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Ile Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly
50 55 60

Ser Gly Ala Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser Ser Val Gln Ala
65 70 75 80

Glu Asp Leu Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln His Tyr Ser Pro Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 22

<211> 509

<212> PRT

15 <213> Secvență artificială

<220>

<223> rHuPH20

<400> 22

```

Met Gly Val Leu Lys Phe Lys His Ile Phe Phe Arg Ser Phe Val Lys
1           5           10           15

Ser Ser Gly Val Ser Gln Ile Val Phe Thr Phe Leu Leu Ile Pro Cys
20           25           30

Cys Leu Thr Leu Asn Phe Arg Ala Pro Pro Val Ile Pro Asn Val Pro
35           40           45

Phe Leu Trp Ala Trp Asn Ala Pro Ser Glu Phe Cys Leu Gly Lys Phe
50           55           60

Asp Glu Pro Leu Asp Met Ser Leu Phe Ser Phe Ile Gly Ser Pro Arg
65           70           75           80

Ile Asn Ala Thr Gly Gln Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu
85           90           95

Gly Tyr Tyr Pro Tyr Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val Thr Val Asn Gly
100          105          110

Gly Ile Pro Gln Lys Ile Ser Leu Gln Asp His Leu Asp Lys Ala Lys
115          120          125

Lys Asp Ile Thr Phe Tyr Met Pro Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val
130          135          140

Ile Asp Trp Glu Glu Trp Arg Pro Thr Trp Ala Arg Asn Trp Lys Pro
145          150          155          160

Lys Asp Val Tyr Lys Asn Arg Ser Ile Glu Leu Val Gln Gln Gln Asn
165          170          175

Val Gln Leu Ser Leu Thr Glu Ala Thr Glu Lys Ala Lys Gln Glu Phe
180          185          190

Glu Lys Ala Gly Lys Asp Phe Leu Val Glu Thr Ile Lys Leu Gly Lys
195          200          205

Leu Leu Arg Pro Asn His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Cys
210          215          220

Tyr Asn His His Tyr Lys Lys Pro Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn
225          230          235          240

Val Glu Ile Lys Arg Asn Asp Asp Leu Ser Trp Leu Trp Asn Glu Ser
245          250          255

Thr Ala Leu Tyr Pro Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Gln Gln Ser Pro Val
260          265          270

```

50

Ala	Ala	Thr	Leu	Tyr	Val	Arg	Asn	Arg	Val	Arg	Glu	Ala	Ile	Arg	Val
275						280						285			
Ser	Lys	Ile	Pro	Asp	Ala	Lys	Ser	Pro	Leu	Pro	Val	Phe	Ala	Tyr	Thr
290						295				300					
Arg	Ile	Val	Phe	Thr	Asp	Gln	Val	Leu	Lys	Phe	Leu	Ser	Gln	Asp	Glu
305				310						315				320	
Leu	Val	Tyr	Thr	Phe	Gly	Glu	Thr	Val	Ala	Leu	Gly	Ala	Ser	Gly	Ile
				325				330						335	
Val	Ile	Trp	Gly	Thr	Leu	Ser	Ile	Met	Arg	Ser	Met	Lys	Ser	Cys	Leu
		340						345				350			
Leu	Leu	Asp	Asn	Tyr	Met	Glu	Thr	Ile	Leu	Asn	Pro	Tyr	Ile	Ile	Asn
		355				360						365			
Val	Thr	Leu	Ala	Ala	Lys	Met	Cys	Ser	Gln	Val	Leu	Cys	Gln	Glu	Gln
370						375				380					
Gly	Val	Cys	Ile	Arg	Lys	Asn	Trp	Asn	Ser	Ser	Asp	Tyr	Leu	His	Leu
385				390						395				400	
Asn	Pro	Asp	Asn	Phe	Ala	Ile	Gln	Leu	Glu	Lys	Gly	Gly	Lys	Phe	Thr
				405				410						415	
Val	Arg	Gly	Lys	Pro	Thr	Leu	Glu	Asp	Leu	Glu	Gln	Phe	Ser	Glu	Lys
		420						425				430			
Phe	Tyr	Cys	Ser	Cys	Tyr	Ser	Thr	Leu	Ser	Cys	Lys	Glu	Lys	Ala	Asp
		435				440						445			
Val	Lys	Asp	Thr	Asp	Ala	Val	Asp	Val	Cys	Ile	Ala	Asp	Gly	Val	Cys
450						455				460					
Ile	Asp	Ala	Phe	Leu	Lys	Pro	Pro	Met	Glu	Thr	Glu	Glu	Pro	Gln	Ile
465				470						475				480	
Phe	Tyr	Asn	Ala	Ser	Pro	Ser	Thr	Leu	Ser	Ala	Thr	Met	Phe	Ile	Val
				485				490						495	
Ser	Ile	Leu	Phe	Leu	Ile	Ile	Ser	Ser	Val	Ala	Ser	Leu			
		500						505							

(56) Referințe bibliografice citate în raportul de documentare:

- WO-A1-2016/187546
- ARTHUR.: "Innovations in subcutaneous infusions.", J Infus Nurs., vol. 38, no. 3, June 2015 (2015-06), pages 179-87, XP009510495,
- WO-A1-2016/209921
- WO-A2-2009/128917
- US-A1- 2015 118 251
- US-A1- 2015 231 235

(57) Revendicări:

1. O compoziție farmaceutică cuprinzând un anticorp anti-CD38 și o hialuronidază, în care:

- a) anticorpul cuprinde o regiune variabilă a lanțului greu (VH) din SEQ ID NO: 4 și o regiune variabilă a lanțului ușor (VL) din SEQ ID NO: 5; și
- b) compoziția cuprinde aproximativ 1.800 mg de anticorp anti-CD38 și aproximativ 30.000 U de hialuronidază.

2. Compoziția farmaceutică în conformitate cu revendicarea 1:

- a) cuprinzând în plus un purtător acceptabil farmaceutic; și/sau
- b) care este o combinație fixată sau o combinație nefixată.

3. Compoziția farmaceutică în conformitate cu revendicarea 1 sau revendicarea 2, cuprinzând:

- a) de la aproximativ 20 mg/mL până la aproximativ 160 mg/mL de anticorp anti-CD38;
- b) de la aproximativ 20 mg/mL până la aproximativ 140 mg/mL de anticorp anti-CD38;
- c) de la aproximativ 20 mg/mL până la aproximativ 120 mg/mL de anticorp anti-CD38;
- d) de la aproximativ 40 mg/mL până la aproximativ 120 mg/mL de anticorp anti-CD38;
- e) de la aproximativ 60 mg/mL până la aproximativ 120 mg/mL de anticorp anti-CD38;
- f) de la aproximativ 80 mg/mL până la aproximativ 120 mg/mL de anticorp anti-CD38; sau
- g) de la aproximativ 100 mg/mL până la aproximativ 120 mg/mL de anticorp anti-CD38.

4. Compoziția farmaceutică conform oricăreia dintre revendicările 1-3, cuprinzând

- a) aproximativ 20 mg/mL de anticorp anti-CD38;
- b) aproximativ 100 mg/mL de anticorp anti-CD38; sau
- c) aproximativ 120 mg/mL de anticorp anti-CD38.

5. Compoziția farmaceutică conform oricăreia dintre revendicările 1-4, cuprinzând:

- a) de la aproximativ 500 U/ml până la aproximativ 5.000 U/ml de hialuronidază;
- b) de la aproximativ 1.000 U/ml până la aproximativ 5.000 U/ml de hialuronidază;
- c) de la aproximativ 2.000 U/ml până la aproximativ 5.000 U/ml de hialuronidază;
- d) de la aproximativ 500 U/ml până la aproximativ 2.000 U/ml de hialuronidază; sau
- e) de la aproximativ 1.000 U/ml până la aproximativ 2.000 U/ml de hialuronidază.

6. Compoziția farmaceutică conform oricăreia dintre revendicările 1-5, cuprinzând

- a) aproximativ 500 U/ml de hialuronidază;
- b) aproximativ 2.000 U/ml de hialuronidază; sau
- c) aproximativ 5.000 U/ml de hialuronidază.

7. Compoziția farmaceutică conform oricăreia dintre revendicările 1-6, în care anticorpul anti-CD38 cuprinde un lanț greu din SEQ ID NO: 12 și un lanț ușor din SEQ ID NO: 13.

8. Compoziția farmaceutică conform oricăreia dintre revendicările 1-7, cuprinzând:

a) de la aproximativ 20 mg/mL până la aproximativ 120 mg/mL de anticorp anti-CD38 cuprinzând VH din SEQ ID NO: 4 și VL din SEQ ID NO: 5 în aproximativ 25 mM acid acetic, aproximativ 60 mM clorură de sodiu, aproximativ 140 manitol și aproximativ 0,04% m/v polisorbit-20 (PS-20); la pH aproximativ 5,5; și hialuronidază în 10 mM L-histidină, 130 mM NaCl, 10 mM L-metionină, 0,02% Polisorbit-80, pH 6,5; sau

b) aproximativ 20 mg/mL de anticorp anti-CD38 cuprinzând VH din SEQ ID NO: 4 și VL din SEQ ID NO: 5 în aproximativ 25 mM acid acetic, aproximativ 60 mM clorură de sodiu, aproximativ 140 manitol și aproximativ 0,04% m/v polisorbitat-20 (PS-20); la pH aproximativ 5,5; și hialuronidază în 10 mM L-histidină, 130 mM NaCl, 10 mM L-metionină, 0,02% Polisorbitat-80, pH 6,5;

opțional în care hialuronidaza este rHuPH20 (SEQ ID NO: 22), care este opțional o combinație nefixată.

9. Compoziția farmaceutică conform oricăreia dintre revendicările 1-7, cuprinzând:

a) de la aproximativ 1 mg/mL până la aproximativ 180 mg/mL de anticorp anti-CD38 cuprinzând VH din SEQ ID NO: 4 și VL din SEQ ID NO: 5;

b) de la aproximativ 50 U/ml până la aproximativ 5.000 U/ml de hialuronidază;

c) de la aproximativ 5 mM până la aproximativ 50 mM histidină; și

d) de la aproximativ 50 mM până la aproximativ 400 mM sorbitol;

opțional:

i) cuprinzând în plus de la aproximativ 0,01% m/v până la aproximativ 0,1% PS-20; și/sau de la aproximativ 0,1 mg/mL până la aproximativ 2,5 mg/mL metionină; sau

ii) cuprinzând de la aproximativ 100 mg/mL până la aproximativ 120 mg/mL de anticorp anti-CD38 cuprinzând VH din SEQ ID NO: 4 și VL din SEQ ID NO: 5; de la aproximativ 50 U/ml până la aproximativ 5.000 U/ml de hialuronidază; aproximativ 10 mM histidină; și de la aproximativ 100 mM până la aproximativ 300 mM sorbitol; opțional cuprinzând în plus de la aproximativ 0,01% m/v până la aproximativ 0,04% m/v PS-20; și de la aproximativ 1 mg/mL până la aproximativ 2 mg/mL metionină.

10. Compoziția farmaceutică conform oricăreia dintre revendicările 1-7 sau 9, cuprinzând aproximativ 120 mg/mL de anticorp anti-CD38 cuprinzând VH din SEQ ID NO: 4 și VL din SEQ ID NO: 5; aproximativ 2.000 U/ml of rHuPH20; aproximativ 10 mM histidină; aproximativ 300 mM sorbitol; aproximativ 0,04% m/v PS-20; și aproximativ 1 mg/mL metionină; pH aproximativ 5,5.

11. Compoziția farmaceutică conform oricăreia dintre revendicările 1-10:

a) în care hialuronidaza este rHuPH20 (SEQ ID NO: 22); și/sau

b) care este într-o formă unitară de dozare.

12. O compoziție farmaceutică pentru utilizare într-o metodă de tratare a unui cancer la un subiect, în care metoda cuprinde administrarea compoziției farmaceutice subcutanat către subiect și în care compoziția farmaceutică cuprinde un anticorp anti-CD38 și o hialuronidază, în care:

a) anticorpul cuprinde o regiune variabilă a lanțului greu (VH) din SEQ ID NO: 4 și o regiune variabilă a lanțului ușor (VL) din SEQ ID NO: 5; și

b) compoziția cuprinde aproximativ 1.800 mg de anticorp anti-CD38 și aproximativ 30.000 U de hialuronidază.

13. Compoziția farmaceutică pentru utilizare în conformitate cu revendicarea 12:

a) în care compoziția farmaceutică este o combinație fixată sau o combinație nefixată;

b) în care compoziția farmaceutică cuprinde de la aproximativ 20 mg/mL până la aproximativ 160 mg/mL, de la aproximativ 20 mg/mL până la aproximativ 140 mg/mL, de la aproximativ 20 mg/mL până la aproximativ 120 mg/mL, de la aproximativ 40 mg/mL până la aproximativ 120 mg/mL, de la aproximativ 60 mg/mL până la aproximativ 120 mg/mL, de la aproximativ 80 mg/mL până la aproximativ 120 mg/mL, de la aproximativ 100 mg/mL până la aproximativ 120 mg/mL, aproximativ 20 mg/mL, aproximativ 100 mg/mL sau aproximativ 120 mg/mL de anticorp anti-CD38; și/sau

c) în care compoziția farmaceutică cuprinde de la aproximativ 500 U/ml până la aproximativ 5.000 U/ml, de la aproximativ 1.000 U/ml până la aproximativ 5.000 U/ml, de la aproximativ 2.000 U/ml până la aproximativ 5.000 U/ml, de la aproximativ 50 U/ml până la aproximativ 2.000 U/ml, de la aproximativ 500 U/ml până la aproximativ 2.000 U/ml, de la aproximativ 1.000 U/ml până la aproximativ 2.000 U/ml, aproximativ 500 U/ml, aproximativ 2.000 U/ml sau aproximativ 5.000 U/ml de hialuronidază.

14. Compoziția farmaceutică pentru utilizare în conformitate cu revendicarea 12 sau revendicarea 13, în care compoziția farmaceutică cuprinde:

a) aproximativ 20 mg/mL de anticorp anti-CD38 cuprinzând VH din SEQ ID NO: 4 și VL din SEQ ID NO: 5, aproximativ 25 mM acid acetic, aproximativ 60 mM clorură de sodiu, aproximativ 140 mM manitol; și aproximativ 0,04% m/v polisorbitat-20 (PS-20), pH aproximativ 5,5;

b) de la aproximativ 1 mg/mL până la aproximativ 180 mg/mL de anticorp anti-CD38 cuprinzând VH din SEQ ID NO: 4 și VL din SEQ ID NO: 5, de la aproximativ 50 U/ml până la aproximativ 5.000 U/ml de hialuronidază, de la aproximativ 5 mM până la aproximativ 50 mM histidină și de la aproximativ 50 mM până la aproximativ 400 mM sorbitol, opțional cuprinzând în plus de la aproximativ 0,01% m/v până la aproximativ 0,1% m/v PS-20 și/sau de la aproximativ 0,1 mg/mL până la aproximativ 2,5 mg/mL metionină;

c) de la aproximativ 100 mg/mL până la aproximativ 120 mg/mL de anticorp anti-CD38 cuprinzând VH din SEQ ID NO: 4 și VL din SEQ ID NO: 5, de la aproximativ 50 U/ml până la aproximativ 5.000 U/ml de hialuronidază, aproximativ 10 mM histidină și de la aproximativ 100 mM până la aproximativ 300 mM sorbitol, cuprinzând opțional în plus de la aproximativ 0,01% m/v până la aproximativ 0,04% m/v PS-20 și/sau de la aproximativ 1 mg/mL până la aproximativ 2 mg/mL metionină; sau

d) aproximativ 120 mg/mL de anticorp anti-CD38 cuprinzând VH din SEQ ID NO: 4 și VL din SEQ ID NO: 5, aproximativ 2.000 U/ml de hialuronidază, aproximativ 10 mM histidină, aproximativ 300 mM sorbitol, aproximativ 0,04% m/v PS-20 și aproximativ 1 mg/mL metionină; pH aproximativ 5,5.

15. Compoziția farmaceutică pentru utilizare conform oricăreia dintre revendicările 12-14:

a) în care hialuronidaza este rHuPH20 (SEQ ID NO: 22);

b) în care cancerul este:

i) o tumoare solidă; sau

ii) o malignitate hematologică pozitivă CD38, în care opțional malignitatea hematologică pozitivă CD38 este un mielom multiplu, un limfom folicular, un limfom difuz cu celule B mari, o amiloidoză a lanțului ușor, un limfom non-Hodgkin, o leucemie limfoblastică acută, un limfom cu celulă manta, o leucemie mieloidă acută sau o leucemie limfocitară cronică, cum ar fi în care malignitatea hematologică pozitivă CD38 este mielomul multiplu;

c) administrarea suplimentară a unui al doilea agent terapeutic, de exemplu în care al doilea agent terapeutic este un inhibitor proteazom, un agent de alchilare sau un derivat de acid glutamic, sau combinații ale acestora, cum ar fi în care:

i) inhibitorul proteazom este bortezomib, carfilzomib sau ixazomib;

ii) agentul de alchilare este busulfan, ciclofosamidă, bendamustină, clorambucil, carboplatin, cisplatin, temozolomidă, melfalan, carmustină, lomustină, dacarbazină, oxaliplatin, ifosfamidă, mecloretamină, tiotepa, trabectedin sau streptozocin; și

iii) derivatul de acid glutamic este lenalidomidă, talidomidă sau pomalidomidă; și/sau

d) administrarea suplimentară a unui corticosteroid, în care opțional corticosteroidul este dexametazonă sau prednison, cum ar fi în care corticosteroidul este dexametazonă.

16. O formă de dozare unitară, cuprinzând

a) un anticorp anti-CD38 cuprinzând VH din SEQ ID NO: 4 și VL din SEQ ID NO: 5 într-o cantitate de aproximativ 1.800 mg;

b) o hialuronidază într-o cantitate de aproximativ 30.000 U;

c) histidină la o concentrație de la aproximativ 5 mM până la aproximativ 15 mM;

d) sorbitol la o concentrație de la aproximativ 100 mM până la aproximativ 300 mM;

e) PS-20 la o concentrație de la aproximativ 0,01% m/v până la aproximativ 0,04 % m/v; și

f) metionină la o concentrație de la aproximativ 1 mg/mL până la aproximativ 2 mg/mL, la un pH de aproximativ 5,5;

opțional în care:

i) histidina este prezentă la o concentrație de aproximativ 10 mM;

ii) sorbitolul este prezent la o concentrație de aproximativ 300 mM;

iii) polisorbitatul este prezent la o concentrație de aproximativ 0,04% m/v;

iv) metionina este prezentă la o concentrație de aproximativ 1 mg/mL;

v) cuprinzând zaharoză la o concentrație de la aproximativ 100 mM până la aproximativ 200 mM; și/sau

vi) hialuronidaza este rHuPH20 (SEQ ID NO: 22).

- 17.** Forma de dozare unitară conform revendicării 16, cuprinzând
- a) anticorpul anti-CD38 cuprinzând VH din SEQ ID NO: 4 și VL din SEQ ID NO: 5 într-o cantitate de aproximativ 1.800 mg;
 - b) o hialuronidază într-o cantitate de aproximativ 30.000 U;
 - c) histidină la o concentrație de aproximativ 10 mM;
 - d) sorbitol la o concentrație de aproximativ 300 mM;
 - e) PS-20 la o concentrație de aproximativ 0,04 % m/v; și
 - f) metionină la o concentrație de aproximativ 1 mg/mL, la un pH de aproximativ 5,5.
- 18.** Un recipient cuprinzând forma de dozare unitară conform revendicării 16 sau revendicării 17.
- 19.** Compoziția farmaceutică conform oricăreia dintre revendicările 1-11, compoziția farmaceutică pentru utilizare conform oricăreia dintre revendicările 12-15, forma de dozare unitară conform revendicării 16 sau revendicării 17, sau recipientul conform revendicării 18, în care anticorpul anti-CD38:
- a) este de subtip IgG1/κ; și/sau
 - b) induce uciderea celulelor tumorale care exprimă CD38 prin citotoxicitate mediată de celula dependentă de anticorp (ADCC), fagocitoză celulară dependentă de anticorp (ADCP), citotoxicitate dependentă de complement (CDC), apoptoză, sau modularea activității enzimatice a CD38.
- 20.** Compoziția farmaceutică conform oricăreia dintre revendicările 1-11, compoziția farmaceutică pentru utilizare conform oricăreia dintre revendicările 12-15, forma de dozare unitară din revendicările 16 sau 17, sau recipientul conform revendicării 18, în care anticorpul anti-CD38 este daratumumab.