

EX6761R

Traduzione in lingua italiana del Brevetto Europeo n° 3827845

a nome di:

Janssen Biotech, Inc.

“Formulazioni sottocutanee di anticorpi anti-CD38 e loro usi”

DESCRIZIONE

CAMPO DELL'INVENZIONE

La presente invenzione riguarda formulazioni sottocutanee di anticorpi anti-CD38 e loro usi.

FONDAMENTO DELL'INVENZIONE

CD38 è una proteina multifunzionale avente una funzione nell'adesione e nella segnalazione mediata da recettore come pure nel mediare la mobilitazione del calcio mediante la sua attività ectoenzimatica, catalizzando la formazione di ADP-ribosio ciclico (cADPR) e ADPR. CD38 media la secrezione di citochine e l'attivazione e la proliferazione dei linfociti (Funaro *et al.*, J Immunol 145:2390-6, 1990; Terhorst *et al.*, Cell 771-80, 1981; Guse *et al.*, Nature 398:70-3, 1999). CD38, attraverso la sua attività di NAD glicoidrolasi, regola anche i livelli extracellulari del NAD⁺, che sono stati implicati nella modulazione del compartimento delle cellule T regolatorie (Adriouch *et al.*, 14:1284-92, 2012; Chiarugi *et al.*, Nature Reviews 12:741-52, 2012). Oltre alla segnalazione attraverso Ca²⁺, la segnalazione di CD38 avviene attraverso "colloquio incrociato" con complessi antigen-recettore su cellule T e B o altri tipi di complessi di recettore, ad es., molecole MHC, che coinvolgono CD38 nelle diverse risposte cellulari, ma anche nel cambio di isotipo e nella secrezione di IgG1. Il CD38 viene espresso su varie cellule maligne.

Gli anticorpi anti-CD38 sono in fase di sviluppo per il trattamento di mieloma multiplo e altri tumori maligni ematologici (ad es. US 2015/0118251). Gli anticorpi vengono iniettati o infusi attraverso la via endovenosa (IV). La quantità di anticorpo che può essere somministrata attraverso la via endovenosa è limitata dalle proprietà fisico-chimiche dell'anticorpo, in particolare dalla sua solubilità e stabilità in una formulazione liquida adatta e dal volume del liquido di infusione.

Perciò, vi è una necessità di ulteriori formulazioni e composizioni farmaceutiche di anticorpi anti-CD38.

SOMMARIO DELL'INVENZIONE

L'invenzione fornisce una composizione farmaceutica comprendente un anticorpo anti-CD38 e una ialuronidasi, in cui:

- a) l'anticorpo comprende una regione variabile della catena pesante (VH) di SEQ ID NO: 4 e una regione

variabile della catena leggera (VL) di SEQ ID NO: 5; e

b) la composizione comprende circa 1800 mg dell'anticorpo anti-CD38 e circa da 30000 U a circa 45000 U della ialuronidasi.

L'invenzione fornisce anche una composizione farmaceutica comprendente un anticorpo anti-CD38 e una ialuronidasi rHuPH20 avente la sequenza amminoacidica di SEQ ID NO: 22, in cui:

a) l'anticorpo comprende una regione variabile della catena pesante (VH) di SEQ ID NO: 4 e una regione variabile della catena leggera (VL) di SEQ ID NO: 5; e

b) la composizione comprende circa 1800 mg dell'anticorpo anti-CD38 e da circa 30000 U a circa 45000 U della ialuronidasi.

L'invenzione fornisce anche una composizione farmaceutica per uso in un metodo di trattamento di un cancro in un individuo, in cui il metodo comprende somministrare la composizione farmaceutica per via sottocutanea all'individuo e in cui la composizione farmaceutica comprende un anticorpo anti-CD38 e una ialuronidasi, in cui:

a) l'anticorpo comprende una regione variabile della catena pesante (VH) di SEQ ID NO: 4 e una regione variabile della catena leggera (VL) di SEQ ID NO: 5; e

b) la composizione comprende circa 1800 mg dell'anticorpo anti-CD38 e da circa 30000 U a circa 45000 U della ialuronidasi.

La descrizione fornisce anche un metodo di trattamento di un tumore maligno ematologico CD38-positivo, comprendente somministrare per via sottocutanea a un individuo che ne necessita la composizione farmaceutica dell'invenzione per un tempo sufficiente per trattare il tumore maligno ematologico CD38-positivo.

La descrizione fornisce anche un metodo di trattamento di un mieloma multiplo, comprendente somministrare per via sottocutanea a un individuo che ne necessita la composizione farmaceutica dell'invenzione per un tempo sufficiente per trattare il mieloma multiplo.

L'invenzione fornisce anche una forma di dosaggio unitaria, comprendente

un anticorpo anti-CD38 comprendente la VH di SEQ ID NO: 4 e la VL di SEQ ID NO: 5 in una quantità di circa 1800 mg;

una ialuronidasi in una quantità da circa 30000 U a circa 45000 U;

istidina ad una concentrazione compresa tra circa 5 mM e circa 15 mM;

sorbitolo ad una concentrazione compresa tra circa 100 mM e circa 300 mM;

PS-20 ad una concentrazione compresa tra circa 0.01% p/v e circa 0.04 % p/v; e metionina ad una concentrazione compresa tra circa 1 mg/mL e circa 2 mg/mL, ad un pH di circa 5.5.

L'invenzione fornisce anche una forma di dosaggio unitario, comprendente

l'anticorpo anti-CD38 comprendente la VH di SEQ ID NO: 4 e la VL di SEQ ID NO: 5 in una quantità di circa 1800 mg;

una ialuronidasi in una quantità di circa 30000 U;

istidina ad una concentrazione di circa 10 mM;

sorbitolo ad una concentrazione di circa 300 mM;

PS-20 ad una concentrazione di circa 0.04% p/v; e

metionina ad una concentrazione di circa 1 mg/mL, ad un pH di circa 5.5.

L'invenzione fornisce anche un contenitore comprendente la forma di dosaggio unitario dell'invenzione.

DESCRIZIONE DETTAGLIATA DELL'INVENZIONE

"CD38" si riferisce alla proteina di CD38 umano (sinonimi: ADP-ribosil ciclastasi 1, cADPr idrolasi 1, ADP-ribosio ciclico idrolasi 1). CD38 umano ha una sequenza amminoacidica mostrata nel numero di accesso GenBank NP_001766 e in SEQ ID NO: 1. È ben noto che CD38 è una proteina di membrana di tipo II a singolo passaggio con i residui amminoacidici 1-21 che rappresentano il dominio citosolico, i residui amminoacidici 22-42 che rappresentano il dominio transmembrana, e i residui 43-300 che rappresentano il dominio extracellulare di CD38.
SEQ ID NO: 1

```
MANCEFSPVSGDKPCCRLSRRAQLCLGVSILVLILVVVLAVVVPRWRQQWSGPGT
TKRFPETVLARCVKYTEIHPMRHVDCQSVWDAFKGAFISKHPCNITEEDYQPLM
KLGQTQVPCNKILLWSRIKDLAQFTQVQRDMFTLEDTLGLYADDLTCWGEFN
TSKINYQSCPDRKDCSNNPVSFVWKTVSRRFAEAACDVVHVMLNGSRSKIFDK
NSTFGSVEVHNLQPEKVQTLQAWVIHGGREDSRDLCQDPTIKELESIIKRNIFSC
KNIYRPDKFLQCVKNPEDSSCTSEI
```

"Anticorpi" è inteso in senso lato ed include molecole di immunoglobuline inclusi anticorpi monoclonali inclusi anticorpi monoclonali murini, umani, umanizzati e chimerici, frammenti leganti l'antigene, anticorpi bispecifici o multispecifici, anticorpi dimerici, tetramericici o multimerici, anticorpi a singola catena, anticorpi a dominio e qualunque altra configurazione modificata della molecola di immunoglobulina che comprende un sito di legame all'antigene della specificità richiesta. Gli "anticorpi a lunghezza intera" sono composti da due catene pesanti (H) e due catene leggere (L) inter-connesse tramite legami disolfuro come pure multimeri degli stessi (ad esempio l'IgM). Ciascuna catena pesante è composta da una regione variabile della catena pesante (VH) e una regione costante della catena pesante (composta da domini CH1, cerniera CH2 e CH3). Ciascuna catena leggera è composta da una regione variabile della catena leggera (VL) e una regione costante della catena leggera (CL). Le regioni VH e VL possono essere ulteriormente suddivise in regioni di ipervariabilità, chiamate regioni determinanti la complementarità (CDR), inframmezzate con regioni framework (FR). Ciascuna VH e VL è composta da tre CDR e quattro segmenti FR, disposti dall'ammino-terminale al carbossi-terminale nel seguente ordine: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, e FR4.

Le "regioni determinanti la complementarità (CDR)" sono "siti di legame all'antigene" in un anticorpo. Le CDR possono essere definite utilizzando vari termini: (i) Regioni Determinanti la Complementarità (CDR), tre nella VH (HCDR1, HCDR2, HCDR3) e tre nella VL (LCDR1, LCDR2, LCDR3) si basano sulla variabilità della sequenza (Wu and Kabat, J Exp Med 132:211-50, 1970; Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5^a Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md., 1991). (ii) "Regioni ipervariabili", "HVR", o "HV", tre nella VH (H1, H2, H3) e tre nella VL (L1, L2, L3) si riferiscono alle regioni di un dominio variabile di anticorpo che sono ipervariabili nella struttura come definito da Chothia e Lesk (Chothia and Lesk, Mol Biol 196:901-17, 1987). La banca dati internazionale ImMunoGeneTics (IMGT) (http://www_imgt_org) fornisce una numerazione e definizione standardizzata di siti leganti l'antigene. La corrispondenza tra CDR, HV e le delineazioni della IMGT è descritta in Lefranc et al., Dev Comparat Immunol 27:55-77, 2003. Il termine "CDR", "HCDR1", "HCDR2", "HCDR3", "LCDR1", "LCDR2" e "LCDR3" come usato nella presente include CDR definite da qualunque dei metodi descritti *supra*, Kabat, Chothia o IMGT, a meno che

non affermato esplicitamente diversamente nella descrizione.

Le immunoglobuline possono essere assegnate a cinque maggiori classi, IgA, IgD, IgE, IgG e IgM, secondo la sequenza amminoacidica del dominio costante della catena pesante. Le IgA e le IgG sono inoltre sottoclassificate come gli isotipi IgA₁, IgA₂, IgG₁, IgG₂, IgG₃ e IgG₄. Le catene leggere degli anticorpi di qualunque specie di vertebrato possono essere assegnate a uno di due tipi chiaramente distinti, vale a dire kappa (κ) e lambda (λ), in base alle sequenze amminoacidiche dei loro domini costanti.

"Frammento legante l'antigene" si riferisce a una porzione di una molecola immunoglobulinica che conserva le proprietà di legame all'antigene dell'anticorpo a lunghezza intera parentale. Frammenti leganti l'antigene esemplari sono come regioni determinanti la complementarità della catena pesante (HCDR) 1, 2 e/o 3, regioni determinanti la complementarità della catena leggera (LCDR) 1, 2 e/o 3, una regione variabile della catena pesante (VH), o una regione variabile della catena leggera (VL), frammenti Fab, F(ab')₂, Fd e Fv come pure anticorpi a dominio (dAb) composti da un dominio VH o un dominio VL. I domini VH e VL possono essere legati insieme attraverso un linker sintetico per formare vari tipi dei design di anticorpo a catena singola in cui i domini VH/VL si accoppiano a livello intramolecolare, o intermolecolare in quei casi dove i domini VH e VL sono espressi da catene separate, per formare un sito di legame all'antigene monovalente, quale Fv a singola catena (scFv) o diabody; descritto ad esempio nella Pubblicazione di Brevetto Internazionale No. WO1998/44001, nella Pubblicazione di Brevetto Internazionale No. WO1988/01649; nella Pubblicazione di Brevetto Internazionale No. WO1994/13804; nella Pubblicazione di Brevetto Internazionale No. WO1992/01047.

"Anticorpo monoclonale" si riferisce a una popolazione di anticorpi con singola composizione di amminoacidi in ciascuna catena pesante e ciascuna catena leggera, tranne per possibili modificazioni ben note quale la rimozione della lisina C-terminale dalla catena pesante dell'anticorpo. Gli anticorpi monoclonali tipicamente legano un unico epitopo antigenico, ad eccezione degli anticorpi monoclonali multispecifici che legano due o più antigeni o epitopi distinti. Gli anticorpi monoclonali bispecifici legano due epitopi antigenici distinti. Gli anticorpi monoclonali possono avere una glicosilazione eterogenea all'interno della popolazione di anticorpi. L'anticorpo monoclonale può essere monospecifico o multispecifico, o monovalente, bivalente o multivalente. Un anticorpo multispecifico,

quale un anticorpo bispecifico o un anticorpo trispecifico è incluso nel termine anticorpo monoclonale.

"Anticorpo isolato" si riferisce a un anticorpo o un frammento legante l'antigene dello stesso che è sostanzialmente privo di altri anticorpi aventi diverse specificità antigeniche (ad es., un anticorpo isolato che lega specificamente CD38 umano è sostanzialmente privo di anticorpi che si legano specificamente a antigeni diversi da CD38 umano).

Nel caso di un anticorpo bispecifico, l'anticorpo bispecifico lega specificamente due antigeni di interesse, ed è sostanzialmente privo di anticorpi che si legano specificamente a antigeni diversi dai due antigeni di interesse.

"Anticorpo isolato" comprende anticorpi che sono isolati a una purezza superiore, quali anticorpi che sono 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o 100% puri.

"Anticorpi umanizzati" si riferisce a anticorpi in cui i siti di legame all'antigene sono derivati da specie non umane e le framework della regione variabile sono derivate da sequenze di immunoglobuline umane. Gli anticorpi umanizzati possono includere mutazioni introdotte intenzionalmente nelle regioni framework in modo che la framework possa non essere una copia esatta di sequenze di geni della linea germinale o di immunoglobulina umani espressi.

"Anticorpi umani" si riferisce a anticorpi aventi regioni variabili della catena pesante e leggera in cui entrambi la framework e il sito di legame all'antigene sono derivati da sequenze di origine umana. Se l'anticorpo contiene una regione costante o una porzione della regione costante, anche la regione costante è derivata da sequenze di origine umana.

Un anticorpo umano comprende regioni variabili della catena pesante o leggera che sono derivate da sequenze di origine umana se le regioni variabili dell'anticorpo sono ottenute da un sistema che utilizza geni umani delle immunoglobuline della linea germinale o delle immunoglobuline riarrangiate. Tali sistemi esemplari sono librerie di geni umani delle immunoglobuline esposte su fago, e animali non umani transgenici quali topi o ratti che portano loci delle immunoglobuline umane come descritto nella presente. Un anticorpo umano tipicamente contiene differenze amminoacidiche rispetto alle sequenze delle immunoglobuline umane della linea germinale o riarrangiate a causa ad esempio di mutazioni somatiche esistenti in natura, introduzione intenzionale di sostituzioni

nella framework o nel sito di legame all'antigene e variazioni amminoacidiche introdotte durante il clonaggio e la ricombinazione VDJ in animali non umani. Tipicamente, un anticorpo umano è almeno circa 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o 100% identico nella sequenza amminoacidica a una sequenza amminoacidica codificata da un gene umano delle immunoglobuline della linea germinale o riarrangiato. In alcuni casi, un anticorpo umano può contenere sequenze framework consenso derivate dall'analisi di sequenze framework umane, ad esempio come descritto in Knappik et al., J Mol Biol 296:57-86, 2000, o una HCDR3 sintetica incorporata in librerie di geni delle immunoglobuline umane esposte su fago, ad esempio come descritto in Shi et al., J Mol Biol 397:385-96, 2010 e nella Pubblicazione di Brevetto Internazionale No. WO2009/085462.

Anticorpi in cui i siti di legame all'antigene sono derivati da una specie non umana non sono inclusi nella definizione di anticorpo umano.

"Ricombinante" include anticorpi e altre proteine che sono preparate, espresse, create o isolate mediante metodi ricombinanti.

"Epitopo" si riferisce a una porzione di un antigene alla quale un anticorpo si lega specificamente. Gli epitopi tipicamente sono costituiti da raggruppamenti di superficie chimicamente attivi (quali polari, non polari o idrofobi) di porzioni quali amminoacidi o catene laterali di polisaccaridi e possono avere caratteristiche strutturali tridimensionali specifiche, come pure caratteristiche di carica specifiche. Un epitopo può essere composto da amminoacidi contigui e/o non contigui che formano una unità conformazionale spaziale. Per un epitopo non contiguo, amminoacidi da porzioni differenti della sequenza lineare dell'antigene vengono in stretta prossimità nello spazio tridimensionale attraverso il ripiegamento della molecola proteica.

"Multispecifico" si riferisce a un anticorpo che lega specificamente almeno due antigeni distinti o due epitopi distinti all'interno degli antigeni, ad esempio tre, quattro o cinque antigeni o epitopi distinti.

"Bispecifico" si riferisce a un anticorpo che lega specificamente due antigeni distinti o due epitopi distinti nello stesso antigene. L'anticorpo bispecifico può avere reattività crociata verso altri antigeni correlati o può legare un epitopo che è condiviso tra due o più antigeni distinti.

"Variante" si riferisce a un polipeptide o un polinucleotide che differisce da un polipeptide di riferimento o un polinucleotide di riferimento per una o più variazioni ad esempio, sostituzioni, inserzioni o delezioni.

"In combinazione con" significa che due o più prodotti terapeutici vengono somministrati a un individuo insieme in una miscela, in contemporanea come singoli agenti o in sequenza come singoli agenti in qualunque ordine.

"Composizione farmaceutica" si riferisce a un prodotto che deriva dal combinare un anticorpo anti-CD38 e una ialuronidasi e include combinazioni sia fisse sia non fisse. Una composizione farmaceutica tipicamente include un carrier farmaceuticamente accettabile. "Combinazioni fisse" si riferisce a una composizione farmaceutica singola comprendente l'anticorpo anti-CD38 e la ialuronidasi somministrata simultaneamente nella forma di un'entità o un dosaggio singoli. "Combinazione non fissa" si riferisce a composizioni farmaceutiche separate dell'anticorpo anti-CD38 e della ialuronidasi o forme di dosaggio unitario somministrate come entità separate simultaneamente, concomitantemente o sequenzialmente con nessun limite di tempo interposto specifico, in cui tale somministrazione fornisce livelli efficaci dei due composti nel corpo dell'individuo.

"Carrier farmaceuticamente accettabile" si riferisce a un ingrediente in una composizione farmaceutica, diverso da un ingrediente attivo, che non è tossico per un individuo. Un carrier farmaceuticamente accettabile include, ma non è limitato a, un tampone, un eccipiente, uno stabilizzante, o un preservante.

"Trattare" o "trattamento" si riferisce a un trattamento terapeutico in cui l'obiettivo è rallentare (ridurre) una malattia o variazione fisiologica indesiderata, quale lo sviluppo o la diffusione di un tumore o di cellule tumorali, o fornire un esito clinico benefico o desiderato durante il trattamento. Esiti clinici benefici o desiderati includono alleviamento dei sintomi, diminuzione del grado di malattia, stato di malattia stabilizzato (cioè, assenza di peggioramento), ritardo o rallentamento della progressione della malattia, mancanza di metastasi, miglioramento o alleviamento dello stato di malattia, e remissione (che sia parziale o totale), rilevabile o non rilevabile.

"Trattamento" può anche significare prolungare la sopravvivenza rispetto alla sopravvivenza attesa se un individuo non ha ricevuto il trattamento. Quelli che necessitano di trattamento includono quegli individui già con la malattia o variazione fisiologica indesiderata come pure quegli individui predisposti ad avere la malattia o variazione fisiologica.

"Quantità terapeuticamente efficace" si riferisce a una quantità efficace, a dosaggi e per periodi di tempo necessari, per raggiungere il risultato terapeutico desiderato. Una quantità terapeuticamente efficace può variare secondo fattori quali lo stato di malattia, l'età, il sesso, e il peso dell'individuo, e la capacità di un prodotto terapeutico o una combinazione di prodotti terapeutici di suscitare una risposta desiderata nell'individuo. Indicatori esemplari di un prodotto terapeutico o una combinazione di prodotti terapeutici efficaci includono, ad esempio, benessere del paziente migliorato, riduzione di un carico tumorale, crescita di un tumore arrestata o rallentata, e/o assenza di metastasi di cellule cancerose in altri siti nel corpo.

"Inibisce la crescita" (ad esempio con riferimento alle cellule tumorali) si riferisce a una diminuzione misurabile della crescita delle cellule tumorali o del tessuto tumorale *in vitro* o *in vivo* quando messi a contatto con un prodotto terapeutico o una combinazione di prodotti terapeutici o farmaci, rispetto alla crescita delle stesse cellule tumorali o dello stesso tessuto tumorale in assenza del prodotto terapeutico o della combinazione di farmaci terapeutici. L'inibizione della crescita di una cellula tumorale o un tessuto tumorale *in vitro* o *in vivo* può essere almeno circa 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 99%, o 100%.

"Tumore maligno ematologico CD38-positivo" si riferisce a un tumore maligno ematologico caratterizzato dalla presenza di cellule tumorali esprimenti CD38 inclusi leucemie, linfomi e mieloma. Esempi di tali tumori maligni ematologici CD38-positivi includono leucemia linfoblastica/linfoma a precursori di cellule B e linfoma non Hodgkin a cellule B, leucemia promielocitica acuta, leucemia linfoblastica acuta e tumori maligni a cellule B mature, quali leucemia linfocitica cronica a cellule B (CLL)/linfoma a piccoli linfociti (SLL), leucemia linfocitica acuta a cellule B, leucemia prolinfocitica a cellule B, linfoma linfoplasmocitico, linfoma a cellule del mantello (MCL), linfoma follicolare (FL), inclusi FL di grado basso, di grado intermedio e di grado alto, linfoma cutaneo centro follicolare, linfoma a cellule B della zona marginale (tipo MALT, tipo nodale e splenico), leucemia a cellule capellute, linfoma diffuso a grandi cellule B (DLBCL), linfoma di Burkitt (BL), plasmacitoma, mieloma multiplo, leucemia a plasmacellule, disordine linfoproliferativo post-trapianto, amiloidosi da catene leggere, macroglobulinemia di Waldenstrom, leucemie a plasmacellule e linfoma anaplastico a grandi cellule (ALCL).

"Circa" significa entro un range di errore accettabile per il particolare valore come determinato da uno di ordinaria

esperienza nella tecnica, che dipenderà in parte da come il valore viene misurato o determinato, cioè, dai limiti del sistema di misurazione. A meno che non affermato diversamente in modo esplicito negli Esempi o altrove nella Descrizione dettagliata nel contesto di un particolare saggio, risultato o forma di realizzazione, "circa" significa entro una deviazione standard secondo la pratica nella tecnica, o un range di fino al 5%, a seconda di quale sia maggiore.

Composizioni farmaceutiche

L'invenzione fornisce una composizione farmaceutica comprendente un anticorpo anti-CD38 e una ialuronidasi, in cui:

- a) l'anticorpo comprende una regione variabile della catena pesante (VH) di SEQ ID NO: 4 e una regione variabile della catena leggera (VL) di SEQ ID NO: 5; e
- b) la composizione comprende circa 1800 mg dell'anticorpo anti-CD38 e da circa 30000 U a circa 45000 U della ialuronidasi.

La ialuronidasi è un enzima che degrada l'acido ialuronico (EC 3.2.1.35) e abbassa la viscosità dello ialuronano nella matrice extracellulare, aumentando così la permeabilità del tessuto. L'attività enzimatica della ialuronidasi, inclusa rHuPH20, può essere definita da unità per mL (U/mL) o da attività enzimatica totale in una particolare formulazione (U) come ulteriormente spiegato di seguito.

rHuPH20 è una ialuronidasi ricombinante (HYLENEX[®] ricombinante) ed è descritta nella Pubblicazione di Brevetto Internazionale No. WO2004/078140.

La definizione standard per una unità (U) di attività enzimatica è la quantità di enzima che catalizza la reazione di una quantità definita di substrato per unità di tempo, quale una μ mole o una nmole di substrato per minuto. I metodi per determinare l'attività di preparazioni di ialuronidasi sono noti nella tecnica e l'attività di preparazioni di ialuronidasi è tipicamente espressa come unità USP o Unità (più avanti nella presente "Unità"). Un metodo esemplare per determinare l'attività si può trovare nel Brevetto degli Stati Uniti No. 7,767,429.

Attività ialuronidasica si riferisce alla capacità di catalizzare enzimaticamente il clivaggio di acido ialuronico. La Farmacopea degli Stati Uniti (USP) XXII fornisce un saggio per la ialuronidasi dove l'attività della ialuronidasi

viene determinata indirettamente misurando la quantità di substrato acido ialuronico ad alto peso molecolare, o ialuronano, (HA) rimanente dopo che l'enzima viene lasciato reagire con l'HA per 30 min a 37°C (USP XXII-NF XVII (1990) 644-645 United States Pharmacopeia Convention, Inc, Rockville, Md.). Una soluzione Standard di Riferimento può essere utilizzata in un saggio per accertare l'attività relativa, in Unità, di qualunque ialuronidasi. Saggi in vitro per determinare l'attività ialuronidasica delle ialuronidasi, quale rHuPH20 solubile, sono noti nella tecnica e descritti nella presente. Saggi esemplari includono il saggio della microtorbidità descritto di seguito (si veda ad esempio l'Esempio 3) che misura indirettamente il clivaggio di acido ialuronico da parte di ialuronidasi rilevando il precipitato insolubile formato quando l'acido ialuronico non clivato si lega con albumina sierica. Standard di Riferimento possono essere usati, ad esempio, per generare una curva standard per determinare l'attività in Unità della ialuronidasi che viene testata.

La composizione farmaceutica è utile per la somministrazione sottocutanea dell'anticorpo anti-CD38 a un individuo che necessita di terapia con anticorpi anti-CD38, quale un individuo avente un cancro, ad esempio un tumore maligno ematologico CD38-positivo. Senza volere essere legati da alcuna particolare teoria, la somministrazione sottocutanea dell'anticorpo anti-CD38 può avere una reazione correlata all'infusione ridotta e ottenere tassi di risposta migliorati rispetto alla somministrazione endovenosa dell'anticorpo anti-CD38.

In alcune forme di realizzazione, la composizione farmaceutica è una combinazione fissa.

In alcune forme di realizzazione, la composizione farmaceutica è una combinazione non fissa.

In alcune forme di realizzazione, la composizione farmaceutica comprende da circa 1 mg/mL a circa 180 mg/mL dell'anticorpo anti-CD38.

In alcune forme di realizzazione, la composizione farmaceutica comprende da circa 10 mg/mL a circa 180 mg/mL dell'anticorpo anti-CD38.

In alcune forme di realizzazione, la composizione farmaceutica comprende da circa 20 mg/mL a circa 160 mg/mL dell'anticorpo anti-CD38.

In alcune forme di realizzazione, la composizione farmaceutica comprende da circa 20 mg/mL a circa 140 mg/mL dell'anticorpo anti-CD38.

In alcune forme di realizzazione, la composizione farmaceutica comprende da circa 20 mg/mL a circa 120 mg/mL dell'anticorpo anti-CD38.

In alcune forme di realizzazione, la composizione farmaceutica comprende da circa 40 mg/mL a circa 120 mg/mL dell'anticorpo anti-CD38.

In alcune forme di realizzazione, la composizione farmaceutica comprende da circa 60 mg/mL a circa 120 mg/mL dell'anticorpo anti-CD38.

In alcune forme di realizzazione, la composizione farmaceutica comprende da circa 80 mg/mL a circa 120 mg/mL dell'anticorpo anti-CD38.

In alcune forme di realizzazione, la composizione farmaceutica comprende da circa 100 mg/mL a circa 120 mg/mL dell'anticorpo anti-CD38.

In alcune forme di realizzazione, la composizione farmaceutica comprende circa 1 mg/mL, circa 5 mg/mL, circa 10 mg/mL, circa 15 mg/mL, circa 20 mg/mL, circa 30 mg/mL, circa 40 mg/mL, circa 50 mg/mL, circa 60 mg/mL, circa 70 mg/mL, circa 80 mg/mL, circa 90 mg/mL, circa 100 mg/mL, circa 110 mg/mL, circa 120 mg/mL, circa 130 mg/mL, circa 140 mg/mL, circa 150 mg/mL, circa 160 mg/mL, circa 170 mg/mL o circa 180 mg/mL dell'anticorpo anti-CD38.

In alcune forme di realizzazione, la composizione farmaceutica comprende circa 20 mg/mL dell'anticorpo anti-CD38.

In alcune forme di realizzazione, la composizione farmaceutica comprende circa 100 mg/mL dell'anticorpo anti-CD38.

In alcune forme di realizzazione, la composizione farmaceutica comprende circa 120 mg/mL dell'anticorpo anti-CD38.

In alcune forme di realizzazione, la composizione farmaceutica comprende da circa 50 U/mL a circa 5000 U/mL della ialuronidasi.

In alcune forme di realizzazione, la composizione farmaceutica comprende da circa 500 U/mL a circa 5000 U/mL della ialuronidasi.

In alcune forme di realizzazione, la composizione farmaceutica comprende da circa 1000 U/mL a circa 5000 U/mL della ialuronidasi.

In alcune forme di realizzazione, la composizione farmaceutica comprende da circa 2000 U/mL a circa 5000 U/mL della ialuronidasi.

In alcune forme di realizzazione, la composizione farmaceutica comprende da circa 50 U/mL a circa 2000 U/mL della ialuronidasi.

In alcune forme di realizzazione, la composizione farmaceutica comprende da circa 500 U/mL a circa 2000 U/mL della ialuronidasi.

In alcune forme di realizzazione, la composizione farmaceutica comprende da circa 1000 U/mL a circa 2000 U/mL della ialuronidasi.

In alcune forme di realizzazione, la composizione farmaceutica comprende circa 500 U/mL, circa 600 U/mL, circa 700 U/mL, circa 800 U/mL, circa 900 U/mL, circa 1000 U/mL, circa 1100 U/mL, circa 1200 U/mL, circa 1300 U/mL, circa 1400 U/mL, circa 1500 U/mL, circa 1600 U/mL, circa 1700 U/mL, circa 1800 U/mL, circa 1900 U/mL, circa 2000 U/mL, circa 2100 U/mL, circa 2200 U/mL, circa 2300 U/mL, circa 2400 U/mL, circa 2500 U/mL, circa 2600 U/mL, circa 2700 U/mL, circa 2800 U/mL, circa 2900 U/mL, circa 3000 U/mL, circa 3100 U/mL, circa 3200 U/mL, circa 3300 U/mL, circa 3400 U/mL, circa 3500 U/mL, circa 3600 U/mL, circa 3700 U/mL, circa 3800 U/mL, circa 3900 U/mL, circa 4000 U/mL, circa 4100 U/mL, circa 4200 U/mL, circa 4300 U/mL, circa 4400 U/mL, circa 4500 U/mL, circa 4600 U/mL, circa 4700 U/mL, circa 4800 U/mL, circa 4900 U/mL o circa 5000 U/mL della ialuronidasi.

In alcune forme di realizzazione, la composizione farmaceutica comprende circa 500 U/mL della ialuronidasi.

In alcune forme di realizzazione, la composizione farmaceutica comprende circa 2000 U/mL della ialuronidasi.

In alcune forme di realizzazione, la composizione farmaceutica comprende circa 5000 U/mL della ialuronidasi.

In alcune forme di realizzazione, la composizione farmaceutica comprende circa 30000 U, circa 31000 U, circa 32000 U, circa 33000 U, circa 34000 U, circa 35000 U, circa 36000 U, circa 37000 U, circa 38000 U, circa 39000 U, circa 40000 U, circa 41000 U, circa 42000 U, circa 43000 U, circa 44000 U, o circa 45000 U della ialuronidasi.

In alcune forme di realizzazione, la composizione farmaceutica comprende circa 1800 mg dell'anticorpo anti-CD38.

In alcune forme di realizzazione, la composizione farmaceutica comprende circa 1800 mg dell'anticorpo anti-CD38 e circa 45000 U della ialuronidasi.

In alcune forme di realizzazione, la ialuronidasi è rHuPH20 avente la sequenza amminoacidica di SEQ ID NO: 22.

L'anticorpo anti-CD38 nella composizione farmaceutica comprende la VH di SEQ ID NO: 4 e la VL di SEQ ID NO: 5.

In alcune forme di realizzazione, l'anticorpo anti-CD38 nella composizione farmaceutica comprende una catena pesante di SEQ ID NO: 12 e una catena leggera di SEQ ID NO: 13.

SEQ ID NO: 2

SKRNIQFSCCKNIYR

SEQ ID NO: 3

EKVQTLAWVIHGG

SEQ ID NO: 4

EVQLLESGGLVQPGSLRLSCAVSGFTFNSFAMSWVRQAPGKGLEWVSA
ISGSGGGTYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYFCAKDK
ILWFGPEVFDYWGQGLVTVSS

SEQ ID NO: 5

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYD
ASNRATGIPARFSGSGGTDFTLTISLLEPEDFAVYYCQQRSNWPPTFGQ
GTKVEIK

SEQ ID NO: 6

SFAMS

SEQ ID NO: 7

AISGSGGGTYADSVK

SEQ ID NO: 8

DKILWFGPEVFDY

SEQ ID NO: 9

RASQSVSSYLA

SEQ ID NO: 10

DASNRAT

SEQ ID NO: 11

QQRSNWPPTF

SEQ ID NO: 12

EVQLLESGGLVQPGSLRLSCAVSGFTFNSFAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSG
GGTYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYFCAKDKILWFGPEV
DYWGQGLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN
SGALTSQVHTFPAVLQSSGLYSLSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRV
EPKSCDKHTCPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE
VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV
NKAALPAIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE
WESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQSVMEALHN
HYTQKLSLSLSPGK

SEQ ID NO: 13

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRAT
GIPARFSGSGGTDFTLTISLLEPEDFAVYYCQQRSNWPPTFGQGTKVEIKRTVAAP
SVFIHPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDS
KDSTYLSSTLTLSKADYKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

SEQ ID NO: 14
 QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVCSKASGGTFSSYAFSWVRQAPGQGLEWMGRVIPF
 LGIANSAQKFKGRVTITADKSTSTAYMDLSSLRSEDTAVYYCARDIAALGPFDY

WGQGTLVTVSSAS
 SEQ ID NO: 15

DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQGISSWLAWYQQKPEKAPKSLIYAASSLQS
 GVPSTRFSGSGGTDFLTITSLQPEDFATYYCQQYNSYPRTFGQGTKVEIK
 SEQ ID NO: 16

EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGSFSNYWIGWVRQMPGKGLEWMGHIYPH
 DSDARYSPSFQGGVTFSDKSTAYLQWSSLKASDTAMYYCARHVGWGSRYW
 YFDLWGRGTLVTVSS
 SEQ ID NO: 17

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPGLLIYDASNRAS
 GIPARFSGSGGTDFLTITSLQPEDFAVYYCQQRSNWPLTFGGGKTKVEIK
 SEQ ID NO: 18

QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYYMNWVRQAPGKGLEWVSGISGD
 PSNTYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDLPLVYTGFA
 YWGQGLVTVSS
 SEQ ID NO: 19

DIELTQPPSVSVAPGQTARISCSGDNLRHYVYVWYQQKPGQAPVLVIYGDSKRPS
 GIPERFSGSNSGNTATLTISGTAQEADYQCQTYTGGASLVFGGKTKLTVLGQ
 SEQ ID NO 20:

QVQLVQSGAEVAKPGTSVKLSCKASGYTFTDYWMQWVKQRPGQGLEWIGT
 IYPGDGDTGYAQKFGKATLTADKSSKTVYMHLSLASEDSAVYYCARGD
 YYGSNSLDYWGQGTSTVTVSS
 SEQ ID NO: 21:

DIVMTQSHLSMSTSLGDPVSITCKASQDVSTVVAWYQQKPGQSPRRLIYS
 ASYRYIGVPRFTGSGAGTDFLFTISSVQAEDLAVYYCQQHYSPPYTFGG
 GTKLEIK

Un anticorpo anti-CD38 esemplare che può essere usato nelle composizioni farmaceutiche dell'invenzione è daratumumab. Daratumumab comprende la regione variabile della catena pesante (VH) e la regione variabile della catena leggera (VL) di sequenze amminoacidiche mostrate in SEQ ID NO: 4 e 5, rispettivamente, la HCDR1, la HCDR2 e la HCDR3 di SEQ ID NO: 6, 7 e 8, rispettivamente, la LCDR1, la LCDR2 e la LCDR3 di SEQ ID NO: 9, 10 e 11, rispettivamente, ed è di sottotipo IgG1/κ e descritto nel Brevetto degli Stati Uniti No. 7,829,693. La sequenza amminoacidica della catena pesante di Daratumumab è mostrata in SEQ ID NO: 12 e la sequenza amminoacidica della catena leggera mostrata in SEQ ID NO: 13.

L'invenzione fornisce anche una composizione farmaceutica comprendente circa 1800 mg dell'anticorpo anti-CD38 comprendente la VH di SEQ ID NO: 4 e la VL di SEQ ID NO: 5, e circa 30000 U della ialuronidasi rHuPH20

di SEQ ID NO: 22, in cui la concentrazione di anticorpo anti-CD38 nella composizione farmaceutica è circa 20 mg/mL.

L'invenzione fornisce anche una composizione farmaceutica comprendente circa 1800 mg dell'anticorpo anti-CD38 comprendente la VH di SEQ ID NO: 4 e la VL di SEQ ID NO: 5, e circa 45000 U della ialuronidasi rHuPH20 di SEQ ID NO: 22, in cui la concentrazione di anticorpo anti-CD38 nella composizione farmaceutica è circa 20 mg/mL.

SEQ ID NO: 22

MGVLKFKHIFFRSFVKSSGVSQIVFTFLIPCCCLTLNFRAPPVIPNVPFLWAWNAPS
 EFCLGKFDEPLDMSLFSFIGSPRINATGQGVTFYVDRLGYYPYIDSITGVTVNGGIP
 QKISLQDHLDKAKKDITFYMPVDNLGMAVIDWEEWRPTWARNWPKDVKYKNRS
 IELVQQQNVQLSLTEATEKAKQEFEKAGKDFLVETIKLGKLLRPNHLWGYLFPD
 CYNHHYKKPGYNGSCFNVEIKRNDLWSLWNESTALYPSIYLNTQQSPVAATLY
 VRNRVREAIRVSKIPDAKSPLPVFAYTRIVFTDQVLKFLSQDELVYTFGETVALGA
 SGIVIWGTLSIMRSMKSCLLLDNYMETILNPYIINVTLAAKMCSQVLCQEQGVCIR
 KNWNSSDYLHLNPDNFAIQLEKGGKFTVRGKPTLEDLEQFSEKFCSCYSTLSCK
 EKADVKDTDVAVDVCIADGVCIDAFKPPMETEEPQIFYNASPSTLSATMFIVSILFLI
 ISSVASL

Gli anticorpi anti-CD38 usati nelle composizioni farmaceutiche dell'invenzione, possono anche essere selezionati *de novo* da, ad esempio, una libreria a esposizione su fago, dove il fago viene ingegnerizzato per esprimere immunoglobuline umane o porzioni delle stesse quali Fab, anticorpi a singola catena (scFv), o regioni variabili di anticorpo non accoppiate o accoppiate (Knappik et al., J Mol Biol 296:57-86, 2000; Krebs et al., J Immunol Meth 254:67-84, 2001; Vaughan et al., Nature Biotechnology 14:309-314, 1996; Sheets et al., PITAS (USA) 95:6157-6162, 1998; Hoogenboom and Winter, J Mol Biol 227:381, 1991; Marks et al., J Mol Biol 222:581, 1991). Domini variabili leganti CD38 possono essere isolati ad esempio, da librerie di esposizione su fago esprimenti regioni variabili della catena pesante e leggera di anticorpo come proteine di fusione con la proteina del coat di batteriofago pIX come descritto in Shi et al., J. Mol. Biol. 397:385-96, 2010 e nella Pubblicazione di Brevetto Internazionale No. WO09/085462). Le librerie di anticorpi possono essere sottoposte a screening per legame a dominio extracellulare di CD38 umano, i cloni positivi ottenuti ulteriormente caratterizzati, gli Fab isolati dai lisati dei cloni, e successivamente clonati come anticorpi a lunghezza intera. Tali metodi di esposizione su fago per isolare

anticorpi umani sono consolidati nella tecnica. Si veda ad esempio: Brevetto degli Stati Uniti No. 5,223,409, Brevetto degli Stati Uniti No. 5,403,484, Brevetto degli Stati Uniti No. 5,571,698, Brevetto degli Stati Uniti No. 5,427,908, Brevetto degli Stati Uniti No. 5,580,717, Brevetto degli Stati Uniti No. 5,969,108, Brevetto degli Stati Uniti No. 6,172,197, Brevetto degli Stati Uniti No. 5,885,793, Brevetto degli Stati Uniti No. 6,521,404, Brevetto degli Stati Uniti No. 6,544,731, Brevetto degli Stati Uniti No. 6,555,313, Brevetto degli Stati Uniti No. 6,582,915, e Brevetto degli Stati Uniti No. 6,593,081.

Gli anticorpi possono essere valutati per la loro competizione con un anticorpo di riferimento quale l'anticorpo anti-CD38 comprendente la VH di SEQ ID NO: 4 e la VL di SEQ ID NO: 5 per il legame a CD38 utilizzando metodi *in vitro* noti. In un metodo esemplare, cellule CHO esprimenti per via ricombinante CD38 possono essere incubate con anticorpo di riferimento non marcato per 15 min a 4°C, seguito da incubazione con un eccesso di anticorpo da testare marcato fluorescentemente per 45 min a 4°C. Dopo lavaggio in PBS/BSA, la fluorescenza può essere misurata mediante citometria a flusso utilizzando metodi standard. In un altro metodo esemplare, la porzione extracellulare di CD38 umano può essere rivestita sulla superficie di una piastra ELISA. Eccesso di anticorpo di riferimento non marcato può essere aggiunto per circa 15 minuti e successivamente possono essere aggiunti anticorpi da testare biotinilati. Dopo lavaggi in PBS/Tween, il legame dell'anticorpo da testare biotinilato può essere rilevato utilizzando streptavidina coniugata a perossidasi di rafano (HRP) e il segnale rilevato utilizzando metodi standard. È subito evidente che nei saggi di competizione, l'anticorpo di riferimento può essere marcato e l'anticorpo da testare non marcato. L'anticorpo da testare compete con l'anticorpo di riferimento quando l'anticorpo di riferimento inibisce il legame dell'anticorpo da testare, o l'anticorpo da testare inibisce il legame dell'anticorpo di riferimento di almeno l'80%, ad esempio 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o 100%. L'epitopo dell'anticorpo da testare può inoltre essere definito ad esempio mediante mappatura degli epitopi o saggi di protezione idrogeno/deuterio utilizzando metodi noti, o tramite determinazione della struttura cristallina.

Anticorpi che legano la regione SKRNIQFSCCKNIYR (SEQ ID NO: 2) e la regione EKVQTLEAWVIHGG (SEQ ID NO: 3) di CD38 umano (SEQ ID NO: 1) possono essere generati ad esempio immunizzando topi con peptidi

aventi le sequenze amminoacidiche mostrate in SEQ ID NO: 2 e 3 utilizzando metodi standard e quelli descritti nella presente, e caratterizzando gli anticorpi ottenuti per il legame ai peptidi utilizzando ad esempio ELISA o studi di mutagenesi.

Le composizioni farmaceutiche dell'invenzione comprendono inoltre un carrier farmaceuticamente accettabile. Carrier esemplari farmaceuticamente accettabili sono solventi, mezzi di dispersione, rivestimenti, agenti antibatterici ed antifungini, agenti isotonici e ritardanti l'assorbimento, e simili che sono fisiologicamente compatibili, quali sali, tamponi, antiossidanti, saccaridi, carrier acquosi o non acquosi, preservanti, agenti bagnanti, tensioattivi o agenti emulsionanti, o combinazioni degli stessi.

Tamponi esemplari che possono essere utilizzati sono acido acetico, acido citrico, acido formico, acido succinico, acido fosforico, acido carbonico, acido malico, acido aspartico, istidina, acido borico, tamponi Tris, HEPPSO e HEPES.

Antiossidanti esemplari che possono essere utilizzati sono acido ascorbico, metionina, cisteina cloridrato, sodio bisolfato, sodio metabisolfato, sodio solfito, lecitina, acido citrico, acido etilenediammina tetraacetico (EDTA), sorbitolo e acido tartarico.

Amminoacidi esemplari che possono essere utilizzati sono istidina, isoleucina, metionina, glicina, arginina, lisina, L-leucina, tri-leucina, alanina, acido glutammico, L-treonina, e 2-fenilammina.

Tensioattivi esemplari che possono essere utilizzati sono polisorbati (ad esempio, polisorbato-20 o polisorbato-80); polossameri (ad esempio, polossamero 188); Triton; sodio ottil glicoside; lauril-, miristil-, linoleil-, o stearyl-solfobetaina; lauril-, miristil-, linoleil- o stearyl-sarcosina; linoleil-, miristil-, o cetil-betaina; lauroamidopropil-, cocamidopropil-, linoleamidopropil-, miristamidopropil-, palmidopropil-, o isostearamidopropil-betaina (ad esempio, lauroamidopropil); miristamidopropil-, palmidopropil-, o isostearamidopropil-dimetilammina; sodio metil cocoil-, o disodio metil oleil-taurato; e la serie MONAQUA™ (Mona Industries, Inc., Paterson, N.J.), polietil glicole, polipropil glicole, e copolimeri di etilene e propilene glicole (ad esempio, PLURONICS™, PF68, etc).

Preservanti esemplari che possono essere utilizzati sono fenolo, m-cresolo, p-cresolo, o-cresolo, clorocresolo, alcol benzilico, fenilmercurico nitrito, fenossietanolo, formaldeide, clorobutanolo, magnesio cloruro, alchilparaben

(metile, etile, propile, butile e simili), benzalconio cloruro, benzetonio cloruro, sodio deidroacetato e tiomersale, o miscele degli stessi.

Saccaridi esemplari che possono essere utilizzati sono monosaccaridi, disaccaridi, trisaccaridi, polisaccaridi, zuccheri alcolici, zuccheri riducenti, zuccheri non riducenti quali glucosio, saccarosio, trealosio, lattosio, fruttosio, maltosio, destrano, glicerina, destrano, eritritolo, glicerolo, arabitolo, silitolo, sorbitolo, mannitolo, mellibiosio, melezitiosio, raffiniosio, mannotriosio, stachiosio, maltosio, lattulosio, maltulosio, glucitolo, maltitolo, lattitolo o iso-maltulosio.

Sali esemplari che possono essere utilizzati sono sali di addizione di acido e sali di addizione di base. Sali di addizione di acido includono quelli derivati da acidi inorganici non tossici, quali cloridrico, nitrico, fosforico, solforico, bromidrico, iodidrico, fosforo e simili, come pure da acidi organici non tossici quali acidi mono- e dicarbossilici alifatici, acidi alcanoici fenil-sostituiti, acidi idrossi alcanoici, acidi aromatici, acidi solfonici alifatici e aromatici e simili. Sali di addizione di base includono quelli derivati da metalli alcalino-terrosi, quali sodio, potassio, magnesio, calcio e simili, come pure da ammine organiche non tossiche, quali N,N'-dibenziletilediammina, N-metilglucammina, cloroprocaina, colina, dietanolammina, etilenediammina, procaina e simili. Un sale esemplare è sodio cloruro.

Le quantità di carrier farmaceuticamente accettabile/i nelle composizioni farmaceutiche possono essere determinate sperimentalmente sulla base delle attività del/dei carrier e delle caratteristiche desiderate della formulazione, quali stabilità e/o ossidazione minima.

In alcune forme di realizzazione, la composizione farmaceutica comprende acido acetico.

In alcune forme di realizzazione, la composizione farmaceutica comprende acido acetico ad una concentrazione compresa tra circa 1 mM e circa 50 mM.

In alcune forme di realizzazione, la composizione farmaceutica comprende acido acetico ad una concentrazione tra circa 10 mM e circa 40 mM.

In alcune forme di realizzazione, la composizione farmaceutica comprende acido acetico ad una concentrazione di circa 10 mM, circa 15 mM, circa 20 mM, circa 25 mM, circa 30 mM, circa 35 mM, circa 40 mM, circa 45 mM

o circa 50 mM.

In alcune forme di realizzazione, la composizione farmaceutica comprende acido acetico ad una concentrazione di circa 25 mM.

In alcune forme di realizzazione, la composizione farmaceutica comprende sodio cloruro (NaCl).

In alcune forme di realizzazione, la composizione farmaceutica comprende NaCl ad una concentrazione compresa tra circa 20 mM e circa 100 mM.

In alcune forme di realizzazione, la composizione farmaceutica comprende NaCl ad una concentrazione compresa tra circa 40 mM e circa 80 mM

In alcune forme di realizzazione, la composizione farmaceutica comprende NaCl ad una concentrazione di circa 20 mM, circa 25 mM, circa 30 mM, circa 35 mM, circa 40 mM, circa 45 mM, circa 50 mM, circa 55 mM, circa 60 mM, circa 65 mM, circa 70 mM, circa 75 mM, circa 80 mM, circa 85 mM, circa 90 mM, circa 95 mM o circa 100 mM

In alcune forme di realizzazione, la composizione farmaceutica comprende NaCl ad una concentrazione di circa 60 mM

In alcune forme di realizzazione, la composizione farmaceutica comprende un saccaride.

In alcune forme di realizzazione, il saccaride è saccarosio.

In alcune forme di realizzazione, il saccaride è sorbitolo.

In alcune forme di realizzazione, il saccaride è mannitolo.

In alcune forme di realizzazione, la composizione farmaceutica comprende saccaride ad una concentrazione compresa tra circa 50 mM e circa 500 mM

In alcune forme di realizzazione, la composizione farmaceutica comprende saccaride ad una concentrazione compresa tra circa 50 mM e circa 450 mM

In alcune forme di realizzazione, la composizione farmaceutica comprende saccaride ad una concentrazione compresa tra circa 50 mM e circa 400 mM

In alcune forme di realizzazione, la composizione farmaceutica comprende saccaride ad una concentrazione

compresa tra circa 50 mM e circa 350 mM

In alcune forme di realizzazione, la composizione farmaceutica comprende saccaride ad una concentrazione compresa tra circa 100 mM e circa 350 mM

In alcune forme di realizzazione, la composizione farmaceutica comprende saccaride ad una concentrazione compresa tra circa 100 mM e circa 300 mM

In alcune forme di realizzazione, la composizione farmaceutica comprende saccaride ad una concentrazione di circa 100 mM , circa 110 mM, circa 120 mM, circa 130 mM, circa 140 mM, circa 150 mM, circa 160 mM, circa 170 mM, circa 180 mM, circa 190 mM, circa 200 mM, circa 210 mM, circa 220 mM, circa 230 mM, circa 240 mM, circa 250 mM, circa 260 mM, circa 270 mM, circa 280 mM, circa 290 mM, circa 300 mM, circa 310 mM, circa 320 mM, circa 330 mM, circa 340 mM, circa 350 mM, circa 360 mM, circa 370 mM, circa 380 mM, circa 390 mM, circa 400 mM, circa 410 mM, circa 420 mM, circa 430 mM, circa 440 mM, circa 450 mM, circa 460 mM, circa 470 mM, circa 480 mM, circa 490 mM o circa 500 mM

In alcune forme di realizzazione, la composizione farmaceutica comprende mannitolo.

In alcune forme di realizzazione, la composizione farmaceutica comprende mannitolo ad una concentrazione compresa tra circa 100 mM e circa 180 mM

In alcune forme di realizzazione, la composizione farmaceutica comprende mannitolo ad una concentrazione compresa tra circa 120 mM e circa 160 mM

In alcune forme di realizzazione, la composizione farmaceutica comprende mannitolo ad una concentrazione di circa 100 mM, circa 105 mM, circa 110 mM, circa 115 mM, circa 120 mM, circa 125 mM, circa 130 mM, circa 135 mM, circa 140 mM, circa 145 mM, circa 150 mM, circa 155 mM, circa 160 mM, circa 165 mM, circa 170 mM, circa 175 mM o circa 180 mM.

In alcune forme di realizzazione, la composizione farmaceutica comprende mannitolo ad una concentrazione di circa 140 mM.

In alcune forme di realizzazione, la composizione farmaceutica comprende polisorbato.

In alcune forme di realizzazione, la composizione farmaceutica comprende polisorbato-20 (PS-20).

In alcune forme di realizzazione, la composizione farmaceutica comprende polisorbato-20 (PS-20) ad una concentrazione compresa tra circa 0.01% p/v e circa 0.1% p/v.

In alcune forme di realizzazione, la composizione farmaceutica comprende polisorbato-20 (PS-20) ad una concentrazione compresa tra circa 0.01% p/v e circa 0.08% p/v.

In alcune forme di realizzazione, la composizione farmaceutica comprende polisorbato-20 (PS-20) ad una concentrazione compresa tra circa 0.01% p/v e circa 0.04% p/v.

In alcune forme di realizzazione, la composizione farmaceutica comprende polisorbato-20 (PS-20) ad una concentrazione di circa 0.01% p/v, 0.02% p/v, 0.03% p/v, 0.04% p/v, 0.05% p/v, 0.06% p/v, 0.07% p/v, 0.08% p/v, 0.09% p/v o 0.1% p/v.

L'invenzione fornisce anche una composizione farmaceutica, come definita nelle rivendicazioni, comprendente da circa 20 mg/mL a circa 120 mg/mL dell'anticorpo anti-CD38 comprendente la VH di SEQ ID NO: 4 e la VL di SEQ ID NO: 5 in circa 25 mM di acido acetico, circa 60 mM di sodio cloruro, circa 140 mM di mannitolo e circa 0.04% p/v di polisorbato-20 (PS-20); a pH circa 5.5; e

da circa 30000 U a 45000 U della ialuronidasi in 10 mM di L-Istidina, 130 mM di NaCl, 10 mM di L-Metionina, 0.02% di Polisorbato 80, pH 6.5.

In alcune forme di realizzazione, la ialuronidasi è rHuPH20 (SEQ ID NO: 22).

In alcune forme di realizzazione, la composizione farmaceutica è una combinazione non fissa.

L'invenzione fornisce anche una composizione farmaceutica, come definita nelle rivendicazioni, comprendente circa 20 mg/mL dell'anticorpo anti-CD38 comprendente la VH di SEQ ID NO: 4 e la VL di SEQ ID NO: 5 in circa 25 mM di acido acetico, circa 60 mM di sodio cloruro, circa 140 mM di mannitolo e circa 0.04% p/v di polisorbato-20 (PS-20); a pH circa 5.5; e

circa 30000 U della ialuronidasi in 10 mM di L-Istidina, 130 mM di NaCl, 10 mM di L-Metionina, 0.02% di Polisorbato 80, pH 6.5.

In alcune forme di realizzazione, la ialuronidasi è rHuPH20 (SEQ ID NO: 22).

In alcune forme di realizzazione, la composizione farmaceutica è una combinazione non fissa.

L'invenzione fornisce anche una composizione farmaceutica, come definita nelle rivendicazioni, comprendente circa 20 mg/mL dell'anticorpo anti-CD38 comprendente la VH di SEQ ID NO: 4 e la VL di SEQ ID NO: 5 in circa 25 mM di acido acetico, circa 60 mM di sodio cloruro, circa 140 mM di mannitolo e circa 0.04% p/v di polisorbato-20 (PS-20); a pH circa 5.5; e circa 45000 U della ialuronidasi in 10 mM di L-Istidina, 130 mM di NaCl, 10 mM di L-Metionina, 0.02% di Polisorbato 80, pH 6.5.

In alcune forme di realizzazione, la ialuronidasi è rHuPH20 (SEQ ID NO: 22).

In alcune forme di realizzazione, la composizione farmaceutica è una combinazione non fissa.

In alcune forme di realizzazione, la composizione farmaceutica comprende istidina.

In alcune forme di realizzazione, la composizione farmaceutica comprende istidina ad una concentrazione compresa tra circa 1 mM e circa 50 mM.

In alcune forme di realizzazione, la composizione farmaceutica comprende istidina ad una concentrazione compresa tra circa 5 mM e circa 50 mM.

In alcune forme di realizzazione, la composizione farmaceutica comprende istidina ad una concentrazione compresa tra circa 5 mM e circa 30 mM.

In alcune forme di realizzazione, la composizione farmaceutica comprende istidina ad una concentrazione compresa tra circa 5 mM e circa 20 mM.

In alcune forme di realizzazione, la composizione farmaceutica comprende istidina ad una concentrazione compresa tra circa 5 mM e circa 15 mM.

In alcune forme di realizzazione, la composizione farmaceutica comprende istidina ad una concentrazione compresa tra circa 5 mM e circa 10 mM.

In alcune forme di realizzazione, la composizione farmaceutica comprende istidina ad una concentrazione di circa 1 mM, circa 2 mM, circa 3 mM, circa 4 mM, circa 5 mM, circa 6 mM, circa 7 mM, circa 8 mM, circa 9 mM, circa 10 mM, circa 11 mM, circa 12 mM, circa 13 mM, circa 14 mM, circa 15 mM, circa 16 mM, circa 17 mM, circa 18 mM, circa 19 mM, circa 20 mM, circa 21 mM, circa 22 mM, circa 23 mM, circa 24 mM, circa 25 mM, circa

26 mM, circa 27 mM, circa 28 mM, circa 29 mM, circa 30 mM, circa 31 mM, circa 32 mM, circa 33 mM, circa 34 mM, circa 35 mM, circa 36 mM, circa 37 mM, circa 38 mM, circa 39 mM, circa 40 mM, circa 41 mM, circa 42 mM, circa 43 mM, circa 44 mM, circa 45 mM, circa 46 mM, circa 47 mM, circa 48 mM, circa 49 mM o circa 50 mM.

In alcune forme di realizzazione, la composizione farmaceutica comprende istidina ad una concentrazione di circa 5 mM.

In alcune forme di realizzazione, la composizione farmaceutica comprende istidina ad una concentrazione di circa 10 mM.

In alcune forme di realizzazione, la composizione farmaceutica comprende istidina ad una concentrazione di circa 15 mM.

In alcune forme di realizzazione, la composizione farmaceutica comprende istidina ad una concentrazione di circa 20 mM.

In alcune forme di realizzazione, la composizione farmaceutica comprende sorbitolo ad una concentrazione compresa tra circa 50 mM e circa 500 mM.

In alcune forme di realizzazione, la composizione farmaceutica comprende sorbitolo ad una concentrazione compresa tra circa 50 mM e circa 450 mM.

In alcune forme di realizzazione, la composizione farmaceutica comprende sorbitolo ad una concentrazione compresa tra circa 50 mM e circa 400 mM.

In alcune forme di realizzazione, la composizione farmaceutica comprende sorbitolo ad una concentrazione compresa tra circa 50 mM e circa 350 mM.

In alcune forme di realizzazione, la composizione farmaceutica comprende sorbitolo ad una concentrazione compresa tra circa 100 mM e circa 350 mM.

In alcune forme di realizzazione, la composizione farmaceutica comprende sorbitolo ad una concentrazione compresa tra circa 100 mM e circa 300 mM.

In alcune forme di realizzazione, la composizione farmaceutica comprende sorbitolo ad una concentrazione di

circa 100 mM , circa 110 mM, circa 120 mM, circa 130 mM, circa 140 mM, circa 150 mM, circa 160 mM, circa 170 mM, circa 180 mM, circa 190 mM, circa 200 mM, circa 210 mM, circa 220 mM, circa 230 mM, circa 240 mM, circa 250 mM, circa 260 mM, circa 270 mM, circa 280 mM, circa 290 mM, circa 300 mM, circa 310 mM, circa 320 mM, circa 330 mM, circa 340 mM, circa 350 mM, circa 360 mM, circa 370 mM, circa 380 mM, circa 390 mM, circa 400 mM, circa 410 mM, circa 420 mM, circa 430 mM, circa 440 mM, circa 450 mM, circa 460 mM, circa 470 mM, circa 480 mM, circa 490 mM o circa 500 mM.

In alcune forme di realizzazione, la composizione farmaceutica comprende sorbitolo ad una concentrazione di circa 50 mM.

In alcune forme di realizzazione, la composizione farmaceutica comprende sorbitolo ad una concentrazione di circa 100 mM.

In alcune forme di realizzazione, la composizione farmaceutica comprende sorbitolo ad una concentrazione di circa 150 mM.

In alcune forme di realizzazione, la composizione farmaceutica comprende sorbitolo ad una concentrazione di circa 200 mM.

In alcune forme di realizzazione, la composizione farmaceutica comprende sorbitolo ad una concentrazione di circa 250 mM.

In alcune forme di realizzazione, la composizione farmaceutica comprende sorbitolo ad una concentrazione di circa 300 mM.

In alcune forme di realizzazione, la composizione farmaceutica comprende sorbitolo ad una concentrazione di circa 350 mM.

In alcune forme di realizzazione, la composizione farmaceutica comprende sorbitolo ad una concentrazione di circa 400 mM.

In alcune forme di realizzazione, la composizione farmaceutica comprende saccarosio ad una concentrazione compresa tra circa 50 mM e circa 500 mM.

In alcune forme di realizzazione, la composizione farmaceutica comprende saccarosio ad una concentrazione

compresa tra circa 50 mM e circa 450 mM.

In alcune forme di realizzazione, la composizione farmaceutica comprende saccarosio ad una concentrazione compresa tra circa 50 mM e circa 400 mM.

In alcune forme di realizzazione, la composizione farmaceutica comprende saccarosio ad una concentrazione compresa tra circa 50 mM e circa 350 mM.

In alcune forme di realizzazione, la composizione farmaceutica comprende saccarosio ad una concentrazione compresa tra circa 100 mM e circa 350 mM.

In alcune forme di realizzazione, la composizione farmaceutica comprende saccarosio ad una concentrazione compresa tra circa 100 mM e circa 200 mM.

In alcune forme di realizzazione, la composizione farmaceutica comprende saccarosio ad una concentrazione di circa 100 mM , circa 110 mM, circa 120 mM, circa 130 mM, circa 140 mM, circa 150 mM, circa 160 mM, circa 170 mM, circa 180 mM, circa 190 mM, circa 200 mM, circa 210 mM, circa 220 mM, circa 230 mM, circa 240 mM, circa 250 mM, circa 260 mM, circa 270 mM, circa 280 mM, circa 290 mM, circa 300 mM, circa 310 mM, circa 320 mM, circa 330 mM, circa 340 mM, circa 350 mM, circa 360 mM, circa 370 mM, circa 380 mM, circa 390 mM, circa 400 mM, circa 410 mM, circa 420 mM, circa 430 mM, circa 440 mM, circa 450 mM, circa 460 mM, circa 470 mM, circa 480 mM, circa 490 mM o circa 500 mM.

In alcune forme di realizzazione, la composizione farmaceutica comprende saccarosio ad una concentrazione di circa 50 mM.

In alcune forme di realizzazione, la composizione farmaceutica comprende saccarosio ad una concentrazione di circa 100 mM.

In alcune forme di realizzazione, la composizione farmaceutica comprende saccarosio ad una concentrazione di circa 150 mM.

In alcune forme di realizzazione, la composizione farmaceutica comprende saccarosio ad una concentrazione di circa 200 mM.

In alcune forme di realizzazione, la composizione farmaceutica comprende saccarosio ad una concentrazione di

circa 250 mM.

In alcune forme di realizzazione, la composizione farmaceutica comprende saccarosio ad una concentrazione di circa 300 mM.

In alcune forme di realizzazione, la composizione farmaceutica comprende saccarosio ad una concentrazione di circa 350 mM.

In alcune forme di realizzazione, la composizione farmaceutica comprende saccarosio ad una concentrazione di circa 400 mM.

In alcune forme di realizzazione, la composizione farmaceutica comprende metionina.

In alcune forme di realizzazione, la composizione farmaceutica comprende metionina ad una concentrazione compresa tra circa 0.1 mg/mL e circa 5 mg/mL.

In alcune forme di realizzazione, la composizione farmaceutica comprende metionina ad una concentrazione compresa tra circa 0.1 mg/mL e circa 2.5 mg/mL.

In alcune forme di realizzazione, la composizione farmaceutica comprende metionina ad una concentrazione compresa tra circa 1 mg/mL e circa 2 mg/mL.

In alcune forme di realizzazione, la composizione farmaceutica comprende metionina ad una concentrazione di circa 0.5 mg/mL, circa 1 mg/mL, circa 1.1 mg/mL, circa 1.2 mg/mL, circa 1.3 mg/mL, circa 1.4 mg/mL, circa 1.5 mg/mL, circa 1.6 mg/mL, circa 1/7 mg/mL, circa 1.8 mg/mL, circa 1.9 mg/mL, circa 2.0 mg/mL, circa 2.1 mg/mL, circa 2.2 mg/mL, circa 2/3 mg/mL, circa 2.4 mg/mL, circa 2.5 mg/mL, circa 2.6 mg/mL, circa 2.7 mg/mL, circa 2.8 mg/mL, circa 2.9 mg/mL, circa 3 mg/mL, circa 3.5 mg/mL, circa 4 mg/mL, circa 4.5 mg/mL o circa 5 mg/mL.

In alcune forme di realizzazione, la composizione farmaceutica è a pH da 5.0 a 6.0.

In alcune forme di realizzazione, la composizione farmaceutica è a pH da 5.3 a 5.8.

In alcune forme di realizzazione, la composizione farmaceutica è a pH 5.5.

In alcune forme di realizzazione, la composizione farmaceutica è a pH 5.6.

L'invenzione fornisce anche una composizione farmaceutica, come definita nelle rivendicazioni, comprendente da circa 1 mg/mL a circa 180 mg/mL dell'anticorpo anti-CD38;

da circa 50 U/mL a circa 5000 U/mL della ialuronidasi

da circa 5 mM a circa 50 mM di istidina; e

da circa 50 mM a circa 400 mM di sorbitolo.

In alcune forme di realizzazione, la ialuronidasi è rHuPH20.

L'invenzione fornisce anche una composizione farmaceutica, come definita nelle rivendicazioni, comprendente

da circa 1 mg/mL a circa 180 mg/mL dell'anticorpo anti-CD38;

da circa 50 U/mL a circa 5000 U/mL della ialuronidasi

da circa 5 mM a circa 50 mM di istidina;

da circa 50 mM a circa 400 mM di sorbitolo;

da circa 0.01% p/v a circa 0.1% di PS-20; e

da circa 0.1 mg/mL a circa 2.5 mg/mL di metionina.

In alcune forme di realizzazione, la ialuronidasi è rHuPH20.

L'invenzione fornisce anche una composizione farmaceutica, come definita nelle rivendicazioni, comprendente

da circa 100 mg/mL a circa 120 mg/mL dell'anticorpo anti-CD38;

da circa 50 U/mL a circa 5000 U/mL della ialuronidasi;

circa 10 mM di istidina; e

da circa 100 mM a circa 300 mM di sorbitolo.

In alcune forme di realizzazione, la ialuronidasi è rHuPH20.

In alcune forme di realizzazione, la composizione farmaceutica comprende inoltre da circa 0.01% p/v a circa 0.04% p/v di PS-20.

In alcune forme di realizzazione, la composizione farmaceutica comprende inoltre da circa 1 mg/mL a circa 2 mg/mL di metionina.

In alcune forme di realizzazione, la composizione farmaceutica comprende inoltre da circa 100 mM a circa 200 mM di saccarosio.

In alcune forme di realizzazione, l'anticorpo anti-CD38 comprende

la catena pesante e la catena leggera di SEQ ID NO: 12 e 13, rispettivamente.

In alcune forme di realizzazione, la ialuronidasi comprende rHuPH20 (SEQ ID NO: 22)

L'invenzione fornisce anche una composizione farmaceutica, come definita nelle rivendicazioni, comprendente da circa 1 mg/mL a circa 180 mg/mL dell'anticorpo anti-CD38 comprendente la VH e la VL di SEQ ID NO: 4 e 5, rispettivamente;

da circa 50 U/mL a circa 5000 U/mL della ialuronidasi

da circa 5 mM a circa 50 mM di istidina; e

da circa 50 mM a circa 400 mM di sorbitolo.

In alcune forme di realizzazione, la ialuronidasi è rHuPH20.

L'invenzione fornisce anche una composizione farmaceutica, come definita nelle rivendicazioni, comprendente da circa 1 mg/mL a circa 180 mg/mL dell'anticorpo anti-CD38 comprendente la VH e la VL di SEQ ID NO: 4 e 5, rispettivamente;

da circa 50 U/mL a circa 5000 U/mL di ialuronidasi da circa 5 mM a circa 50 mM di istidina;

da circa 50 mM a circa 400 mM di sorbitolo;

da circa 0.01% p/v a circa 0.1% di PS-20; e da circa 0.1 mg/mL a circa 2.5 mg/mL di metionina.

In alcune forme di realizzazione, la ialuronidasi è rHuPH20.

L'invenzione fornisce anche una composizione farmaceutica, come definita nelle rivendicazioni, comprendente da circa 100 mg/mL a circa 120 mg/mL dell'anticorpo anti-CD38 comprendente la VH e la VL di SEQ ID NO: 4 e 5, rispettivamente;

da circa 50 U/mL a circa 5000 U/mL di rHuPH20;

circa 10 mM di istidina;

da circa 100 mM a circa 300 mM di sorbitolo;

da circa 0.01% p/v a circa 0.04% p/v di PS-20; e

da circa 1 mg/mL a circa 2 mg/mL di metionina.

L'invenzione fornisce anche una composizione farmaceutica, come definita nelle rivendicazioni, comprendente

circa 120 mg/mL dell'anticorpo anti-CD38 comprendente la VH e la VL di SEQ ID NO: 4 e 5, rispettivamente;
circa 2000 U/mL di rHuPH20;
circa 10 mM di istidina;
circa 300 mM di sorbitolo;
circa 0.04% p/v di PS-20; e
circa 1 mg/mL di metionina; a pH circa 5.6.

L'invenzione fornisce anche una composizione farmaceutica comprendente
circa 100 mg/mL dell'anticorpo anti-CD38 comprendente la VH e la VL di SEQ ID NO: 4 e 5, rispettivamente;
circa 2000 U/mL di rHuPH20;
circa 10 mM di istidina;
circa 300 mM di sorbitolo;
circa 0.04% p/v di PS-20; e
circa 1 mg/mL di metionina; a pH circa 5.5.

In alcune forme di realizzazione, la composizione farmaceutica è una combinazione fissa.

Le formulazioni da usare per somministrazione *in vivo* sono generalmente sterili. La sterilità può essere facilmente realizzata, ad es., mediante filtrazione attraverso membrane di filtrazione sterili.

Le composizioni farmaceutiche dell'invenzione possono essere preparate mediante metodi noti. Ad esempio, le composizioni farmaceutiche possono essere preparate, ad es., dissolvendo, sospendendo o emulsionando l'anticorpo anti-CD38 in un mezzo acquoso sterile o un mezzo oleoso convenzionalmente usato per le preparazioni iniettabili.

Somministrazione

Le composizioni farmaceutiche dell'invenzione possono essere somministrate come una combinazione non fissa.

Le composizioni farmaceutiche dell'invenzione possono anche essere somministrate come una combinazione fissa, ad es., come una forma di dosaggio unitario (o forma di unità di dosaggio). Le combinazioni fisse possono essere vantaggiose per la facilità di somministrazione e l'uniformità di dosaggio.

L'invenzione fornisce anche una forma di dosaggio unitario, comprendente

l'anticorpo anti-CD38 comprendente la VH di SEQ ID NO: 4 e la VL di SEQ ID NO: 5 in una quantità di circa 1800 mg;

rHuPH20 in una quantità da circa 30000 U a circa 45000 U;

istidina ad una concentrazione compresa tra circa 5 mM e circa 15 mM;

sorbitolo ad una concentrazione compresa tra circa 100 mM e circa 300 mM;

PS-20 ad una concentrazione compresa tra circa 0.01% p/v e circa 0.04% p/v; e

metionina ad una concentrazione compresa tra circa 1 mg/mL e circa 2 mg/mL, ad un pH di circa 5.5.

L'invenzione fornisce anche una forma di dosaggio unitario, comprendente

l'anticorpo anti-CD38 comprendente la VH di SEQ ID NO: 4 e la VL di SEQ ID NO: 5 in una quantità di circa 1800 mg;

rHuPH20 in una quantità di da circa 30000 U;

istidina ad una concentrazione di circa 10 mM;

sorbitolo ad una concentrazione di circa 300 mM;

PS-20 ad una concentrazione di circa 0.04 % p/v; e

metionina ad una concentrazione di da circa 1 mg/mL; ad un pH di circa 5.5.

La composizione farmaceutica dell'invenzione può essere somministrata in un volume totale di circa 80 mL, 90 mL, 100 mL, 110 mL o 120 mL.

La composizione farmaceutica dell'invenzione può essere somministrata in un volume totale di circa 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 o 120 mL.

La composizione farmaceutica dell'invenzione può essere somministrata in un volume totale di circa 10 mL.

La composizione farmaceutica dell'invenzione può essere somministrata in un volume totale di circa 15 mL.

La composizione farmaceutica dell'invenzione può essere somministrata in un volume totale di circa 20 mL.

Il volume totale di somministrazione può essere tipicamente più piccolo per le combinazioni fisse rispetto alle combinazioni non fisse.

La composizione farmaceutica dell'invenzione può essere fornita in un contenitore.

L'invenzione fornisce anche un contenitore comprendente la forma di dosaggio unitario dell'invenzione.

Il contenitore può essere una fiala, una cartuccia, una siringa, una siringa pre-riempita o una penna usa e getta.

La somministrazione delle composizioni farmaceutiche dell'invenzione può essere ripetuta dopo un giorno, due giorni, tre giorni, quattro giorni, cinque giorni, sei giorni, una settimana, due settimane, tre settimane, quattro settimane, cinque settimane, sei settimane, sette settimane, due mesi, tre mesi, quattro mesi, cinque mesi, sei mesi o più. Cicli ripetuti di trattamento sono anche possibili, come lo è la somministrazione cronica. La somministrazione ripetuta può essere alla stessa dose o a una dose diversa. Ad esempio, le composizioni farmaceutiche dell'invenzione possono essere somministrate una volta alla settimana per otto settimane, seguito da una volta ogni due settimane per 16 settimane, seguito da una volta ogni quattro settimane.

La composizione farmaceutica dell'invenzione può essere somministrata per via sottocutanea.

La composizione farmaceutica dell'invenzione può essere somministrata per via sottocutanea alla regione addominale.

La somministrazione sottocutanea può essere realizzata utilizzando un dispositivo. Il dispositivo può essere una siringa, una siringa pre-riempita, un auto-iniettore, monouso o riutilizzabile, un iniettore a penna, un iniettore a cerotto, un iniettore indossabile o una pompa per infusione a siringa ambulatoriale con set per infusione sottocutanea.

Per combinazioni non fisse, 20 mg/mL di anticorpo anti-CD38 in 25 mM di acetato di sodio, 60 mM di sodio cloruro, 140 mM di D-mannitolo, 0.04% di polisorbato 20, pH 5.5 possono essere miscelati con 1 mg/mL (75-150 kU/mL) di rHuPH20 in 10 mM di L-Istidina, 130 mM di NaCl, 10 mM di L-Metionina, 0.02% di polisorbato-80, pH 6.5 prima della somministrazione della miscela a un individuo.

Le composizioni farmaceutiche dell'invenzione possono anche essere somministrate in via profilattica al fine di ridurre il rischio di sviluppare cancro, ritardare l'insorgenza del verificarsi di un evento in progressione di cancro,

e/o ridurre il rischio di recidiva quando un cancro è in remissione. Questo può essere in particolare utile in pazienti in cui è difficile individuare un tumore che è noto che è presente a causa di altri fattori biologici.

Composizioni farmaceutiche per uso in metodi di trattamento

L'invenzione fornisce anche una composizione farmaceutica per uso in un metodo di trattamento di un cancro, comprendente somministrare a un individuo che ne necessita la composizione farmaceutica dell'invenzione per un tempo sufficiente per trattare il cancro.

In alcune forme di realizzazione, il cancro è un tumore maligno ematologico CD38-positivo.

In alcune forme di realizzazione, il tumore maligno ematologico CD38-positivo è mieloma multiplo.

In alcune forme di realizzazione, il tumore maligno ematologico CD38-positivo è linfoma diffuso a grandi cellule B (DLBCL).

In alcune forme di realizzazione, il tumore maligno ematologico CD38-positivo è linfoma non-Hodgkin.

In alcune forme di realizzazione, il tumore maligno ematologico CD38-positivo è leucemia linfoblastica acuta (ALL).

In alcune forme di realizzazione, il tumore maligno ematologico CD38-positivo è linfoma follicolare (FL).

In alcune forme di realizzazione, il tumore maligno ematologico CD38-positivo è linfoma di Burkitt (BL).

In alcune forme di realizzazione, il tumore maligno ematologico CD38-positivo è linfoma a cellule del mantello (MCL).

In alcune forme di realizzazione, il tumore maligno ematologico CD38-positivo è amiloidosi da catene leggere (AL).

In alcune forme di realizzazione, il tumore maligno ematologico CD38-positivo è mieloma multiplo, leucemia linfoblastica acuta (ALL), linfoma non-Hodgkin, linfoma diffuso a grandi cellule B (DLBCL), linfoma di Burkitt (BL), linfoma follicolare (FL) o linfoma a cellule del mantello (MCL).

Esempi di linfomi non-Hodgkin a cellule B sono granulomatosi linfomatoide, linfoma ad effusione primaria, linfoma intravascolare a grandi cellule B, linfoma del mediastino a grandi cellule B, malattie da catene pesanti (includendo γ , μ , e una malattia), linfomi indotti da terapia con agenti immunosoppressori, quali linfoma indotto

da ciclosporina, e linfoma indotto da metotrexato.

In alcune forme di realizzazione, il cancro è un tumore solido.

L'invenzione fornisce anche una composizione farmaceutica per uso in un metodo di trattamento di un tumore maligno ematologico CD38-positivo, comprendente somministrare a un individuo che ne necessita una composizione farmaceutica dell'invenzione per via sottocutanea per un tempo sufficiente per trattare il tumore maligno ematologico CD38-positivo, in cui la concentrazione di anticorpo anti-CD38 nella composizione farmaceutica è circa 20 mg/mL.

L'invenzione fornisce anche una composizione farmaceutica per uso in un metodo di trattamento di un tumore maligno ematologico CD38-positivo, comprendente somministrare a un individuo che ne necessita una composizione farmaceutica comprendente circa 1800 mg dell'anticorpo anti-CD38 comprendente la VH di SEQ ID NO: 4 e la VL di SEQ ID NO: 5 e da circa 30000 U a 45000 U della ialuronidasi rHuPH20 di SEQ ID NO: 22 per via sottocutanea per un tempo sufficiente per trattare il tumore maligno ematologico CD38-positivo, in cui la concentrazione di anticorpo anti-CD38 nella composizione farmaceutica è circa 20 mg/mL.

L'invenzione fornisce anche un metodo per il trattamento di un tumore maligno ematologico CD38-positivo, comprendente somministrare a un individuo che ne necessita una composizione farmaceutica comprendente circa 1800 mg dell'anticorpo anti-CD38 comprendente la VH di SEQ ID NO: 4 e la VL di SEQ ID NO: 5 e da circa 30000 U della ialuronidasi rHuPH20 di SEQ ID NO: 22 per un tempo sufficiente per trattare il tumore maligno ematologico CD38-positivo, in cui la concentrazione di anticorpo anti-CD38 nella composizione farmaceutica è circa 20 mg/mL.

L'invenzione fornisce anche un metodo per il trattamento di un tumore maligno ematologico CD38-positivo, comprendente somministrare a un individuo che ne necessita una composizione farmaceutica comprendente circa 1800 mg dell'anticorpo anti-CD38 comprendente la VH di SEQ ID NO: 4 e la VL di SEQ ID NO: 5 e da circa 45000 U della ialuronidasi rHuPH20 di SEQ ID NO: 22 per un tempo sufficiente per trattare il tumore maligno ematologico CD38-positivo, in cui la concentrazione di anticorpo anti-CD38 nella composizione farmaceutica è circa 20 mg/mL.

L'invenzione fornisce anche una composizione farmaceutica per uso in un metodo di trattamento di un tumore maligno ematologico CD38-positivo, comprendente somministrare a un individuo che ne necessita una composizione farmaceutica comprendente circa 1800 mg dell'anticorpo anti-CD38 comprendente la VH di SEQ ID NO: 4 e la VL di SEQ ID NO: 5 e da circa 30000 U a 45000 U della ialuronidasi, in cui la composizione farmaceutica è una combinazione non fissa.

L'invenzione, come definita nelle rivendicazioni, fornisce anche una composizione farmaceutica per uso in un metodo di trattamento di un tumore maligno ematologico CD38-positivo, comprendente somministrare a un individuo che ne necessita la composizione farmaceutica, in cui la composizione farmaceutica comprende da circa 20 mg/mL a circa 120 mg/mL dell'anticorpo anti-CD38 comprendente la VH di SEQ ID NO: 4 e la VL di SEQ ID NO: 5 in circa 25 mM di acido acetico, circa 60 mM di sodio cloruro, circa 140 di mannitolo e circa 0.04% p/v di polisorbato-20 (PS-20); a pH circa 5.5; e

da circa 30000 U a circa 45000 U della ialuronidasi in 10 mM di L-istidina, 130 mM di NaCl, 10 mM di L-metionina, 0.02% di Polisorbato-80, pH 6.5. In alcune forme di realizzazione, la ialuronidasi è rHuPH20.

In alcune forme di realizzazione, la composizione farmaceutica è una combinazione non fissa.

L'invenzione, come definita nelle rivendicazioni, fornisce anche una composizione farmaceutica per uso in un metodo di trattamento di un tumore maligno ematologico CD38-positivo, comprendente somministrare a un individuo che ne necessita una composizione farmaceutica, in cui la composizione farmaceutica comprende circa 20 mg/mL dell'anticorpo anti-CD38 comprendente la VH di SEQ ID NO: 4 e la VL di SEQ ID NO: 5 in circa 25 mM di acido acetico, circa 60 mM di sodio cloruro, circa 140 di mannitolo e circa 0.04% p/v di polisorbato-20 (PS-20); a pH circa 5.5; e

circa 30000 U della ialuronidasi in 10 mM di L-istidina, 130 mM di NaCl, 10 mM di L-metionina, 0.02% di Polisorbato-80, pH 6.5.

In alcune forme di realizzazione, la ialuronidasi è rHuPH20.

In alcune forme di realizzazione, la composizione farmaceutica è una combinazione non fissa.

L'invenzione, come definita nelle rivendicazioni, fornisce anche una composizione farmaceutica per uso in un

metodo di trattamento di un tumore maligno ematologico CD38-positivo, comprendente somministrare a un individuo che ne necessita una composizione farmaceutica comprendente circa 20 mg/mL dell'anticorpo anti-CD38 comprendente la VH di SEQ ID NO: 4 e la VL di SEQ ID NO: 5 in circa 25 mM di acido acetico, circa 60 mM di sodio cloruro, circa 140 di mannitolo e circa 0.04% p/v di polisorbato-20 (PS-20); a pH circa 5.5; e circa 45000 U della ialuronidasi in 10 mM di L-istidina, 130 mM di NaCl, 10 mM di L-metionina, 0.02% di Polisorbato-80, pH 6.5.

In alcune forme di realizzazione, la ialuronidasi è rHuPH20.

In alcune forme di realizzazione, la composizione farmaceutica è una combinazione non fissa.

L'invenzione, come definita nelle rivendicazioni, fornisce anche una composizione farmaceutica per uso in un metodo di trattamento di un tumore maligno ematologico CD38-positivo, comprendente somministrare a un individuo che ne necessita una composizione farmaceutica comprendente l'anticorpo anti-CD38 comprendente la VH di SEQ ID NO: 4 e la VL di SEQ ID NO: 5 e la ialuronidasi, in cui la composizione farmaceutica è una combinazione fissa.

L'invenzione, come definita nelle rivendicazioni, fornisce anche una composizione farmaceutica per uso in un metodo di trattamento di un tumore maligno ematologico CD38-positivo, comprendente somministrare a un individuo che ne necessita una composizione farmaceutica comprendente

da circa 1 mg/mL a circa 180 mg/mL dell'anticorpo anti-CD38 comprendente la VH e la VL di SEQ ID NO: 4 e 5, rispettivamente;

da circa 50 U/mL a circa 5000 U/mL della ialuronidasi

da circa 5 mM a circa 50 mM di istidina; e

da circa 50 mM a circa 400 mM di sorbitolo.

In alcune forme di realizzazione, la ialuronidasi è rHuPH20.

L'invenzione, come definita nelle rivendicazioni, fornisce anche una composizione farmaceutica per uso in un metodo di trattamento di un tumore maligno ematologico CD38-positivo, comprendente somministrare a un individuo che ne necessita una composizione farmaceutica comprendente

da circa 1 mg/mL a circa 180 mg/mL dell'anticorpo anti-CD38 comprendente la VH e la VL di SEQ ID NO: 4 e 5, rispettivamente;

da circa 50 U/mL a circa 5000 U/mL della ialuronidasi da circa 5 mM a circa 50 mM di istidina;

da circa 50 mM a circa 400 mM di sorbitolo;

da circa 0.01% p/v a circa 0.1% di PS-20; e

da circa 0.1 mg/mL a circa 2.5 mg/mL di metionina.

In alcune forme di realizzazione, la ialuronidasi è rHuPH20.

L'invenzione, come definita nelle rivendicazioni, fornisce anche una composizione farmaceutica per uso in un metodo di trattamento di un tumore maligno ematologico CD38-positivo, comprendente somministrare a un individuo che ne necessita una composizione farmaceutica comprendente

da circa 100 mg/mL a circa 120 mg/mL dell'anticorpo anti-CD38 comprendente la VH e la VL di SEQ ID NO: 4 e 5, rispettivamente;

da circa 50 U/mL a circa 5000 U/mL della ialuronidasi;

circa 10 mM di istidina;

da circa 100 mM a circa 300 mM di sorbitolo;

da circa 0.01% p/v a circa 0.04% p/v di PS-20; e

da circa 1 mg/mL a circa 2 mg/mL di metionina.

In alcune forme di realizzazione, la ialuronidasi è rHuPH20.

L'invenzione, come definita nelle rivendicazioni, fornisce anche una composizione farmaceutica per uso in un metodo di trattamento di un tumore maligno ematologico CD38-positivo, comprendente somministrare a un individuo che ne necessita una composizione farmaceutica comprendente

circa 120 mg/mL dell'anticorpo anti-CD38 comprendente la VH e la VL di SEQ ID NO: 4 e 5, rispettivamente;

circa 2000 U/mL di rHuPH20;

circa 10 mM di istidina;

circa 300 mM di sorbitolo;

circa 0.04% p/v di PS-20; e

circa 1 mg/mL di metionina; a pH circa 5.6.

In alcune forme di realizzazione, la ialuronidasi è rHuPH20.

Gli anticorpi anti-CD38 nelle composizioni farmaceutiche dell'invenzione possono indurre uccisione di cellule tumorali esprimenti CD38 tramite citotossicità cellulo-mediata anticorpo-dipendente (ADCC), fagocitosi cellulare anticorpo-dipendente (ADCP), citotossicità complemento-dipendente (CDC), apoptosi, o modulazione di attività enzimatica di CD38. Gli anticorpi anti-CD38 nelle composizioni farmaceutiche dell'invenzione possono anche mediare l'efficacia anti-tumore tramite i loro effetti immunomodulatori inducendo proliferazione di cellule T CD4⁺ e CD8⁺, e/o attenuando l'inibizione di risposte infiammatorie mediate da cellule soppressori mieloide-derivate (MDSC) e cellule T regolatorie (Treg).

"Citotossicità cellulare anticorpo-dipendente", "citotossicità cellulo-mediata anticorpo-dipendente" o "ADCC" è un meccanismo per indurre morte cellulare che dipende dall'interazione di cellule bersaglio rivestite da anticorpi con cellule effettrici che possiedono attività litica, quali cellule natural killer, monociti, macrofagi e neutrofili attraverso i recettori Fc gamma (FcγR) espressi sulle cellule effettrici. Ad esempio, le cellule NK esprimono FcγRIIIa, mentre invece i monociti esprimono FcγRI, FcγRII e FcγRIIIa. La morte della cellula bersaglio rivestita da anticorpi, quali le cellule esprimenti CD38, avviene come risultato dell'attività di cellule effettrici attraverso la secrezione di proteine della membrana formanti pori e proteasi. Per valutare l'attività ADCC di un anticorpo che lega specificamente CD38, l'anticorpo può essere aggiunto a cellule esprimenti CD38 in combinazione con cellule immunitarie effettrici, che possono essere attivate dai complessi antigene-anticorpo con conseguente citolisi della cellula bersaglio. La citolisi viene generalmente rilevata dal rilascio di marcatore (ad es. substrati radioattivi, coloranti fluorescenti o proteine intracellulari naturali) dalle cellule lisate. Cellule effettrici esemplari per tali saggi includono cellule mononucleate del sangue periferico (PBMC) e cellule NK. Cellule bersaglio esemplari includono Treg o MDSC esprimenti CD38. In un saggio esemplare, le cellule bersaglio sono marcate con 20 μCi di ⁵¹Cr per 2 ore e lavate a fondo. La concentrazione cellulare delle cellule bersaglio può essere aggiustata a 1×10⁶cellule/ml, e anticorpi anti-CD38 a varie concentrazioni vengono aggiunti. I saggi sono cominciati aggiungendo le cellule

bersaglio in un rapporto cellula effettrice:bersaglio di 40:1. Dopo incubazione per 3 h a 37°C i saggi sono arrestati tramite centrifugazione, e il rilascio di ^{51}Cr dalle cellule lisate viene misurato in un contatore a scintillazione. La percentuale di citotossicità cellulare può essere calcolata come la % di lisi massima che può essere indotta aggiungendo acido perclorico 3% alle cellule bersaglio.

"Fagocitosi cellulare anticorpo-dipendente" ("ADCP") si riferisce a un meccanismo di eliminazione di cellule bersaglio rivestite da anticorpi mediante internalizzazione ad opera di cellule fagocitiche, quali macrofagi o cellule dendritiche. L'ADCP può essere valutata utilizzando Treg o MDSC esprimenti CD38 come cellule bersaglio ingegnerizzate per esprimere GFP o un'altra molecola marcata. Il rapporto cellula effettrice:bersaglio può essere ad esempio 4:1. Le cellule effettrici possono essere incubate con le cellule bersaglio per 4 ore con o senza anticorpo anti-CD38. Dopo l'incubazione, le cellule possono essere distaccate utilizzando Accutase. I macrofagi possono essere identificati con anticorpi anti-CD11b e anti-CD14 coniugati a un marcatore fluorescente, e la percentuale di fagocitosi può essere determinata sulla base della % di GFP fluorescente nei macrofagi $\text{CD11}^+\text{CD14}^+$ utilizzando metodi standard.

"Citotossicità complemento-dipendente", o "CDC", si riferisce a un meccanismo per indurre morte cellulare in cui un dominio effettrice Fc di un anticorpo legato al bersaglio lega e attiva la componente del complemento C1q che a sua volta attiva la cascata del complemento portando alla morte delle cellule bersaglio. L'attivazione del complemento può dare come risultato anche la deposizione di componenti del complemento sulla superficie delle cellule bersaglio che facilitano l'ADCC legando recettori del complemento (ad es., CR3) sui leucociti.

La capacità di anticorpi monoclonali di indurre ADCC può essere aumentata ingegnerizzando la loro componente oligosaccaridica. IgG1 o IgG3 umana sono N-glicosilate nella Asn297 con la maggior parte dei glicani nelle forme biantennarie ben note G0, G0F, G1, G1F, G2 o G2F. Anticorpi prodotti tramite cellule CHO non ingegnerizzate tipicamente hanno un contenuto di fucosio dei glicani di circa almeno l'85%. La rimozione del fucosio del core dagli oligosaccaridi di tipo complesso biantennari attaccati alle regioni Fc aumenta l'ADCC degli anticorpi attraverso il miglioramento del legame a FcγRIIIa senza alterare il legame all'antigene o l'attività CDC. Tali mAb possono essere ottenuti utilizzando diversi metodi che è riportato che conducono all'espressione di successo di

anticorpi relativamente altamente defucosilati che portano il tipo complesso biantennario di oligosaccaridi del Fc come ad esempio il controllo della osmolalità della coltura (Konno et al., *Cytotechnology* 64:249-65, 2012), l'applicazione di una linea CHO variante Lec13 come la linea cellulare ospite (Shields et al., *J Biol Chem* 277:26733-26740, 2002), l'applicazione di una linea CHO variante EB66 come la linea cellulare ospite (Olivier et al., *MAbs* ;2(4), 2010; Pubblicazione elettronica precedente alla stampa; PMID:20562582), applicazione di una linea cellulare di ibridoma di ratto YB2/0 come la linea cellulare ospite (Shinkawa et al., *J Biol Chem* 278:3466-3473, 2003), introduzione di piccolo RNA interferente specificamente contro il gene della α 1,6-fucosiltrasferasi (*FUT8*) (Mori et al., *Biotechnol Bioeng*88:901-908, 2004), o co-espressione di β -1,4-*N*-acetilglucosaminiltransferasi III e α -mannosidasi II del Golgi o un potente inibitore della alfa-mannosidasi I, la kifunensina (Ferrara et al., *J Biol Chem*281:5032-5036, 2006, Ferrara et al., *Biotechnol Bioeng* 93:851-861, 2006; Xhou et al., *Biotechnol Bioeng* 99:652-65, 2008). L'ADCC suscitata da anticorpi anti-CD38 utilizzati nell'invenzione, e in alcune forme di realizzazione di ciascuna delle forme di realizzazione numerate elencate di seguito, può essere aumentata anche da determinate sostituzioni nel Fc dell'anticorpo. Sostituzioni esemplari sono ad esempio sostituzioni nelle posizioni amminoacidiche 256, 290, 298, 312, 356, 330, 333, 334, 360, 378 o 430 (numerazione dei residui secondo l'indice EU) come descritto nel Brevetto degli Stati Uniti No. 6,737,056.

In alcune forme di realizzazione, l'anticorpo anti-CD38 comprende una sostituzione nel Fc dell'anticorpo.

In alcune forme di realizzazione, l'anticorpo anti-CD38 comprende una sostituzione nel Fc dell'anticorpo nelle posizioni amminoacidiche 256, 290, 298, 312, 356, 330, 333, 334, 360, 378 o 430 (numerazione dei residui secondo l'indice EU).

In alcune forme di realizzazione, l'anticorpo anti-CD38 ha una struttura a glicani biantennari con contenuto di fucosio di circa tra 0% e circa 15%, ad esempio 15%, 14%, 13%, 12%, 11% 10%, 9%, 8%, 7%, 6%, 5%, 4%, 3%, 2%, 1% o 0%.

In alcune forme di realizzazione, l'anticorpo anti-CD38 ha una struttura a glicani biantennari con contenuto di fucosio di circa 50%, 40%, 45%, 40%, 35%, 30%, 25%, 20%, 15%, 14%, 13%, 12%, 11% 10%, 9%, 8%, 7%, 6%, 5%, 4%, 3%, 2%, 1% o 0%

Sostituzioni nel Fc e un contenuto ridotto di fucosio possono aumentare l'attività ADCC dell'anticorpo che lega specificamente CD38.

"Contenuto di fucosio" significa la quantità del monosaccaride fucosio all'interno della catena saccaridica in Asn297. La quantità relativa di fucosio è la percentuale di strutture contenenti fucosio correlate a tutte le glicostrutture. Queste possono essere caratterizzate e quantificate con molteplici metodi, ad esempio: 1) utilizzando MALDI-TOF di campione trattato con N-glicosidasi F (ad es. strutture complesse, ibride e oligo- e ad alto-mannosio) come descritto nella Pubblicazione di Brevetto Internazionale No. WO2008/077546; 2) mediante rilascio enzimatico dei glicani in Asn297 con successiva derivatizzazione e rilevazione/quantificazione mediante HPLC (UPLC) con rilevazione della fluorescenza e/o HPLC-MS (UPLC-MS); 3) analisi di proteina intatta del mAb nativo o ridotto, con o senza trattamento dei glicani in Asn297 con Endo S o un altro enzima che cliva tra i monosaccaridi della prima e della seconda GlcNAc, lasciando il fucosio attaccato alla prima GlcNAc; 4) digestione del mAb nei peptidi costituenti tramite digestione enzimatica (ad es., tripsina o endopeptidasi Lys-C), e successiva separazione, rilevazione e quantificazione tramite HPLC-MS (UPLC-MS) o 5) separazione degli oligosaccaridi del mAb dalla proteina mAb mediante deglicosilazione enzimatica specifica con PNGasi F in Asn 297. Gli oligosaccaridi rilasciati possono essere marcati con un fluoroforo, separati ed identificati mediante varie tecniche complementari che permettono: fine caratterizzazione delle strutture glicaniche mediante spettrometria di massa mediante ionizzazione per desorbimento laser assistita da matrice (MALDI) per confronto delle masse sperimentali con le massime teoriche, determinazione del grado di sialilazione mediante HPLC a scambio ionico (GlycoSep C), separazione e quantificazione delle forme di oligosaccaride secondo i criteri di idrofilia tramite HPLC in fase normale (GlycoSep N), e separazione e quantificazione degli oligosaccaridi mediante elettroforesi capillare ad alta performance-fluorescenza indotta da laser (HPCE-LIF).

"Basso fucosio" o "basso contenuto di fucosio" come usato nella presente si riferisce a anticorpi con contenuto di fucosio di circa 0% - 15%.

"Fucosio normale" o "contenuto di fucosio normale" come usato nella presente si riferisce a anticorpi con contenuto di fucosio di circa oltre il 50%, tipicamente circa oltre il 60%, il 70%, l'80% o oltre l'85%.

Nei metodi descritti nella presente, e in alcune forme di realizzazione di ciascuna delle forme di realizzazione numerate elencate di seguito, l'anticorpo anti-CD38 è di isotipo IgG1, IgG2, IgG3 o IgG4.

Anticorpi che sono sostanzialmente identici all'anticorpo comprendente la VH di SEQ ID NO: 4 e la VL di SEQ ID NO: 5 possono essere utilizzati nei metodi nella presente. Il termine "sostanzialmente identici" come usato nella presente significa che le due sequenze amminoacidiche VH o VL di anticorpo che vengono confrontate sono identiche o hanno "differenze non sostanziali". Differenze non sostanziali sono sostituzioni di 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, o 15 amminoacidi in una catena pesante o una catena leggera di anticorpo che non influiscono negativamente sulle proprietà dell'anticorpo. La percentuale di identità può essere determinata ad esempio mediante allineamento a coppie utilizzando le impostazioni di default del modulo AlignX di Vector NTI v.9.0.0 (Invitrogen, Carlsbad, CA). Le sequenze proteiche della presente invenzione possono essere usate come una sequenza query per eseguire una ricerca contro banche dati pubbliche o brevettuali, ad esempio, per identificare sequenze correlate. Programmi esemplari utilizzati per eseguire tali ricerche sono i programmi XBLAST o BLASTP (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>), o la suite GenomeQuest™ (GenomeQuest, Westborough, MA) utilizzando le impostazioni di default. Sostituzioni esemplari che possono essere fatte contro gli anticorpi anti-CD38 utilizzati nell'invenzione sono ad esempio sostituzioni conservative con un amminoacido avente simili caratteristiche di carica, idrofobicità, o stereochimica. Sostituzioni conservative possono anche essere fatte per migliorare le proprietà dell'anticorpo, ad esempio stabilità o affinità, o per migliorare le funzioni effettrici dell'anticorpo. 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, o 15 sostituzioni amminoacidiche possono essere fatte ad esempio nella catena pesante o leggera dell'anticorpo anti-CD38. Inoltre, qualunque residuo nativo nella catena pesante o leggera può anche essere sostituito con alanina, come è stato precedentemente descritto per mutagenesi a scansione di alanina (MacLennan et al., *Acta Physiol Scand Suppl* 643:55-67, 1998; Sasaki et al., *Adv Biophys* 35:1-24, 1998). Sostituzioni amminoacidiche desiderate possono essere determinate da quelli esperti nella tecnica al momento in cui si vogliono tali sostituzioni. Sostituzioni amminoacidiche possono essere fatte ad esempio tramite mutagenesi per PCR (Brevetto degli Stati Uniti No. 4,683,195). Librerie di varianti possono essere generate utilizzando metodi ben noti, ad esempio utilizzando codoni casuali (NNK) o non casuali, ad esempio codoni DVK,

che codificano per 11 amminoacidi (Ala, Cys, Asp, Glu, Gly, Lys, Asn, Arg, Ser, Tyr, Trp) e screening delle librerie per varianti con proprietà desiderate. Le varianti generate possono essere testate per il loro legame a CD38, la loro capacità di indurre ADCC, ADCP o apoptosi, o modulare l'attività enzimatica di CD38 *in vitro* utilizzando metodi descritti nella presente.

In alcune forme di realizzazione, l'anticorpo anti-CD38 può legare CD38 umano con un range di affinità (K_D). In una forma di realizzazione secondo l'invenzione, e in alcune forme di realizzazione di ciascuna delle forme di realizzazione numerate elencate qui di seguito, l'anticorpo anti-CD38 si lega a CD38 con alta affinità, ad esempio, con una K_D uguale o inferiore a circa 10^{-7} M, quale ma non limitata a, 1-9.9 (o qualunque range o valore nello stesso, quale 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, o 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 o qualunque range o valore nello stesso, come determinato mediante risonanza plasmonica di superficie o il metodo Kinexa, come messo in pratica da quelli di esperienza nella tecnica. Un'affinità esemplare è uguale o inferiore a 1×10^{-8} M. Un'altra affinità esemplare è uguale o inferiore a 1×10^{-9} M.

In alcune forme di realizzazione, l'anticorpo anti-CD38 è un anticorpo bispecifico. Le regioni VL e/o VH degli anticorpi anti-CD38 esistenti o le regioni VL e VH identificate *de novo* come descritto nella presente possono essere ingegnerizzate in anticorpi a lunghezza intera bispecifici. Tali anticorpi bispecifici possono essere prodotti modulando le interazioni di CH3 tra le catene pesanti di anticorpo monospecifico per formare anticorpi bispecifici utilizzando tecnologie quali quelle descritte in Brevetto degli Stati Uniti No. 7,695,936; Pubblicazione di Brevetto Internazionale No. WO04/111233; Pubblicazione di Brevetto degli Stati Uniti No. US2010/0015133; Pubblicazione di Brevetto degli Stati Uniti No. US2007/0287170; Pubblicazione di Brevetto Internazionale No. WO2008/119353; Pubblicazione di Brevetto degli Stati Uniti No. US2009/0182127; Pubblicazione di Brevetto degli Stati Uniti No. US2010/0286374; Pubblicazione di Brevetto degli Stati Uniti No. US2011/0123532; Pubblicazione di Brevetto Internazionale No. WO2011/131746; Pubblicazione di Brevetto Internazionale No. WO2011/143545; o Pubblicazione di Brevetto degli Stati Uniti No. US2012/0149876. Strutture bispecifiche aggiuntive in cui le regioni VL e/o VH degli anticorpi dell'invenzione possono essere incorporate sono ad esempio Immunoglobuline a Doppio Dominio Variabile (Pubblicazione di Brevetto degli Stati Uniti No. WO2009/134776),

o strutture che includono vari domini di dimerizzazione per connettere le due braccia dell'anticorpo con differente specificità, quali domini a cerniera lampo di leucine o a dimerizzazione di collagene (Pubblicazione di Brevetto Internazionale No. WO2012/022811, Brevetto degli Stati Uniti No. 5,932,448; Brevetto degli Stati Uniti No. 6,833,441).

Ad esempio, anticorpi bispecifici possono essere generati *in vitro* in un ambiente libero da cellule introducendo mutazioni asimmetriche nelle regioni CH3 di due anticorpi omodimerici monospecifici e formando l'anticorpo eterodimerico bispecifico da due anticorpi omodimerici monospecifici parentali in condizioni riducenti per permettere l'isomerizzazione del legame disolfuro secondo metodi descritti nella Pubblicazione di Brevetto Internazionale No. WO2011/131746. Nei metodi, il primo anticorpo bivalente monospecifico (ad es., anticorpo anti-CD38) e il secondo anticorpo bivalente monospecifico vengono ingegnerizzati per avere certe sostituzioni nel dominio CH3 che promuovono la stabilità dell'eterodimero; gli anticorpi vengono incubati insieme in condizioni riducenti sufficienti per permettere alle cisteine nella regione cerniera di andare incontro all'isomerizzazione del legame disolfuro; generando così l'anticorpo bispecifico mediante scambio di braccio Fab. Le condizioni di incubazione possono essere ripristinate in modo ottimale a non riducenti. Agenti riducenti esemplari che possono essere utilizzati sono 2-mercaptoetilammina (2-MEA), ditiotreitolo (DTT), ditioeritritolo (DTE), glutatione, tris(2-carbossietil)fosfina (TCEP), L-cisteina e beta-mercaptoetanololo, preferibilmente un agente riducente selezionato dal gruppo composto da: 2-mercaptoetilammina, ditiotreitolo e tris(2-carbossietil)fosfina. Ad esempio, può essere usata incubazione per almeno 90 min a una temperatura di almeno 20°C in presenza di almeno 25 mM di 2-MEA o in presenza di almeno 0.5 mM di ditiotreitolo ad un pH compreso tra 5-8, ad esempio a pH di 7.0 o a pH di 7.4. Mutazioni in CH3 esemplari che possono essere utilizzate in una prima catena pesante e in una seconda catena pesante dell'anticorpo bispecifico sono K409R e/o F405L.

Le composizioni farmaceutiche dell'invenzione possono essere utilizzate in metodi per trattare un paziente animale appartenente a qualunque classificazione. Esempi di tali animali includono mammiferi quali esseri umani, roditori, cani, gatti ed animali da fattoria.

Terapie di combinazione

Le composizioni farmaceutiche dell'invenzione possono essere somministrate in combinazione con un secondo agente terapeutico, o combinazioni degli stessi.

Il secondo agente terapeutico può essere melfalan, mecloretamina, tioepa, clorambucile, carmustina (BSNU), lomustina (CCNU), ciclofosfamide, busulfan, dibromomannitolo, streptozotocina, dacarbazina (DTIC), procarbazine, mitomicina C, cisplatino e altri derivati del platino, quale carboplatino, talidomide o un analogo della talidomide, lenalidomide o CC4047, un inibitore del proteasoma, quale bortezomib o alcaloide della vinca, quale vincristina o un'antraciclina, quale doxorubicina.

In alcune forme di realizzazione, il secondo agente terapeutico è un inibitore del proteasoma.

In alcune forme di realizzazione, l'inibitore del proteasoma è bortezomib, carfilzomib o ixazomib.

In alcune forme di realizzazione, il secondo agente terapeutico è un agente alchilante.

In alcune forme di realizzazione, l'agente alchilante è busulfan, ciclofosfamide, bendamustina, clorambucile, carboplatino, cisplatino, temozolomide, melfalan, busulfan, bendamustina, carmustina, lomustina, dacarbazina, oxaliplatino, ifosfamide, mecloretamina, tiotepa, trabectedina o streptozocina.

In alcune forme di realizzazione, il secondo agente terapeutico è un derivato di acido glutammico.

In alcune forme di realizzazione, il derivato di acido glutammico è Revlimid® (lenalidomide), talidomide o Pomalyst® (pomalidomide).

In alcune forme di realizzazione, l'individuo è inoltre somministrato con un corticosteroide.

In alcune forme di realizzazione, il corticosteroide è desametasone o predisone.

Il secondo agente terapeutico o combinazioni dello stesso sono tipicamente somministrati a dosaggi raccomandati per l'agente.

La composizione farmaceutica dell'invenzione può essere somministrata simultaneamente o sequenzialmente con il secondo agente terapeutico o combinazioni dello stesso.

Pur avendo descritto l'invenzione in termini generali, le forme di realizzazione dell'invenzione saranno ulteriormente descritte nei seguenti esempi che non devono essere interpretati come limitanti l'ambito delle rivendicazioni.

Esempio 1. Somministrazione sottocutanea di immunoglobulina G umana (IgG) al 2% con ialuronidasi umana ricombinante PH20 (rHuPH20) nel modello suino in miniatura

Sommario

Il maiale in miniatura è un modello preclinico che è adatto per valutare le condizioni di somministrazione sottocutanea (SC) di prodotti bioterapici grazie alla sua somiglianza anatomica con la pelle umana e alla sua traslabilità clinica (Mahj et al., Exp Toxicol Path 57: 341-5,2006). L'obiettivo di questo studio è stato stimare e valutare le condizioni per una somministrazione di 100 mL di una soluzione di IgG umana 20 mg/mL contenente 200, 500, o 800 U/mL di rHuPH20 a due diverse velocità di flusso (2 e 4 mL/min). Gli endpoint includevano misurazioni quantitative della pressione di infusione come pure valutazioni qualitative del sito di infusione locale, quali la dimensione e la compattezza del gonfiore.

Maiali in miniatura dello Yucatan sono stati infusi per via sottocutanea con 100 mL di una soluzione contenente 20 mg/mL di immunoglobulina G (IgG) con 200, 500, o 800 U/mL di rHuPH20 ad una velocità di flusso di 2 o 4 mL/min. Le pressioni in-linea in tempo reale sono state misurate durante le infusioni. Dopo completamento delle infusioni, i siti di infusione locale sono stati misurati per volume e area del gonfiore visibile se presente, e il punteggio qualitativo del sito di infusione per presenza e gravità di eritema, dimensione e compattezza del gonfiore/bolla, e osservazioni macroscopiche. Le pressioni di infusione nel complesso sono state basse e hanno variato da ~ 40 a 60 mmHg (~ 1 PSI) per entrambe le velocità di flusso.

Non vi sono state differenze statistiche nella pressione tra le varie concentrazioni di rHuPH20 e le due diverse velocità di flusso, con la pressione complessiva essendo leggermente inferiore alla velocità di flusso 2 mL/min come atteso.

La scoperta inattesa è stata il numero di infusioni (10 su 12) che avevano gonfiore visibile e misurabile nel sito dell'infusione per la velocità di flusso inferiore 2 mL/min. Questa osservazione è stata riscontrata a tutte e tre le concentrazioni di rHuPH20. Al contrario, solo 3 delle 12 infusioni alla velocità di flusso superiore 4 mL/min hanno comportato un gonfiore locale visibile e misurabile. Di nuovo questo è stato osservato in ciascuna concentrazione di rHuPH20.

In tutti i casi dove era visibile un gonfiore locale, il gonfiore si attenuava entro un'ora. Inoltre, il gonfiore locale nei siti di infusione era generalmente morbido al tatto e non indurito, come indicato dall'indice di gonfiore/indurimento (punteggio medio < 2). La prevalenza dell'eritema è stata più frequente con le infusioni alla velocità di flusso 2 mL/min; tuttavia, nel complesso la gravità dell'eritema è stata lieve e completamente attenuata entro il giorno seguente. Nello studio non sono state notate altre osservazioni macroscopiche dei siti di infusione. In questo studio sono state valutate tre differenti concentrazioni di rHuPH20 (200, 500, o 800 U/mL), con nessuna differenza statistica tra le concentrazioni sulla base degli endpoint dello studio. Nel complesso, la velocità di flusso superiore 4 mL/min comportava frequenza di eritema, gonfiore visibile, e compattezza del sito di infusione locale inferiori rispetto alla velocità di flusso 2 mL/min.

Articoli da testare e metodi

Articoli da testare

Materiali nel Tampone di Formulazione:

- 25mM di acetato di sodio (Spectrum; PN#S0104; Lotto#1DI0271)
- 60 mM di sodio cloruro (Spectrum; PN#S0155; Lotto#1CE0421)
- 140 mM di D-mannitolo (Spectrum; PN#MA165; Lotto#1EB0316)
- 0.04% di polisorbato 20 (JT Baker; PN#4116-04; Lotto#0000017659)

pH 5.5 (acido acetico glaciale a pH; Fisher Scientific; PN#A491-212; Lotto#080972)

Materiali nella Sostanza Farmaceutica:

- Gamma Globulina Umana (BioMed Supply; PN#HGG-1005; Lotto#BMS31309013)
- rHuPH20 [(Prodotta da Cook Pharmica per Halozyme; Halozyme Lotto#462-
- 021B (ri-inflaconato, Cook Lotto#104-001-HSTFIL-9054)]

Formulazione

20 mg/mL di IgG sono stati co-miscelati con 200, 500, o 800 U/mL di rHuPH20 4 giorni prima dell'inizio dello studio. Le soluzioni sono state aliquotate in singole boccette di vetro, chiuse ermeticamente con un tappo, e crimpate con ghiera. Tutte le soluzioni sono state conservate a 2-8°C fino all'inizio dello studio, ma sono state

lasciati acclimatare a temperatura ambiente prima delle infusioni. Inoltre, un campione è stato preso da ogni formulazione per testare l'attività enzimatica di rHuPH20. I risultati del saggio di attività enzimatica hanno confermato che tutte le soluzioni di somministrazione erano entro il 10% della concentrazione target (dati non mostrati).

Descrizione degli Animali

- Specie: Maiale (*Sus scrofa domestica*)
- Ceppo: Yucatan Miniature
- Sesso: Femmina
- Età: > 3 mesi
- Peso: ~ 12 kg
- Quantità: 12
- Fonte: S&S Farms (Ramona, CA)

Allevamento

Gli animali sono stati alloggiati in recinti di acciaio con acqua automatica fornita *ad libitum*. Gli animali sono stati alimentati due volte al giorno (mattina e pomeriggio), tranne nel giorno dello studio (solo pomeriggio). I pesi corporei degli animali sono stati presi e registrati dal giorno della consegna fino a un giorno dopo il completamento dello studio per valutare la salute degli animali. Tutti gli animali mantenevano i pesi corporei durante questo periodo (dati non mostrati). L'ambiente della stanza è stato impostato per mantenere una temperatura di ~17-27°C e un'umidità relativa di 40-70%, con un ciclo temporale di 12 ore di luce/12 ore di buio. Gli animali sono stati lasciati acclimatare alla struttura per 7 giorni prima dell'inizio dello studio.

Materiali del test

- Pompe a siringa ad alta pressione (KD Scientific; Holliston, MA)
- set di aghi per infusione con alette da 23 ga x ¾ pollici con tubo da 12 pollici (Terumo Medical Corporation; Somerset, NJ)
- Siringa Luer-lock da 140-cc (Covidien; Mansfield, MA)

- Set di estensione da 7 pollici (B/Braun; Bethlehem, PA)
- PowerLab 4/30 (AD Instruments; Colorado Springs, CO)
- Trasduttore di pressione monouso Deltran-1 (Utah Medical Products; Midvale, UT)
- Calibro digitale (Preisser Messtechnik; Gammertingen, Germany)
- Isoflurano (Minrad International Company, Orchard Park, NY)
- Vaporizzatore di isoflurano (VetEquip; Pleasanton, CA)

Design sperimentale

Il design sperimentale è riassunto nella Descrizione delle Coorti (**Tabella 1**) e nella Descrizione delle Infusioni per Animale (**Tabella 2**). In breve, 100 mL di una soluzione contenente 20 mg/mL di IgG co-miscelati con 200, 500, o 800 U/mL di rHuPH20 sono stati somministrati nella regione addominale di mini-maiali dello Yucatan anestetizzati ad una velocità di flusso di 2 o 4 mL/min. Gli endpoint dello studio includevano misurazioni della pressione di infusione utilizzando un trasduttore di pressione in-linea, volume e area di gonfiore (bolla) post-infusione locale (se possibile), e valutazione qualitativa del sito di infusione, incluse fotografie.

Tabella 1.

Coorte	Articolo da Testare	Velocità di flusso (mL/min)
1	IgG + 200 U/mL di rHuPH20	2 mL/min
2	IgG + 500 U/mL di rHuPH20	
3	IgG + 800 U/mL di rHuPH20	
4	IgG + 200 U/mL di rHuPH20	4 mL/min
5	IgG + 500 U/mL di rHuPH20	
6	IgG + 800 U/mL di rHuPH20	

Tabella 2.

ID Animale	Velocità di flusso (mL/min)	Infusione lato sinistro	Infusione lato destro
1	2	IgG + 200 U/mL di rHuPH20	IgG + 500 U/mL di rHuPH20
2		IgG + 200 U/mL di rHuPH20	IgG + 800 U/mL di rHuPH20
3		IgG + 500 U/mL di rHuPH20	IgG + 200 U/mL di rHuPH20
4		IgG + 500 U/mL di rHuPH20	IgG + 800 U/mL di rHuPH20
5		IgG + 800 U/mL di rHuPH20	IgG + 200 U/mL di rHuPH20

6		IgG + 800 U/mL di rHuPH20	IgG + 500 U/mL di rHuPH20
7	4	IgG + 200 U/mL di rHuPH20	IgG + 500 U/mL di rHuPH20
8		IgG + 200 U/mL di rHuPH20	IgG + 800 U/mL di rHuPH20
9		IgG + 500 U/mL di rHuPH20	IgG + 200 U/mL di rHuPH20
10		IgG + 500 U/mL di rHuPH20	IgG + 800 U/mL di rHuPH20
11		IgG + 800 U/mL di rHuPH20	IgG + 200 U/mL di rHuPH20
12		IgG + 800 U/mL di rHuPH20	IgG + 500 U/mL di rHuPH20
<p>n = 4 infusioni per coorte per velocità di flusso Ogni animale ha ricevuto 2 diverse infusioni simultanee (una su ciascun sito controlaterale) Concentrazioni di rHuPH20: 200 U/mL = 20000 U totali; 500 U/mL = 50000 U totali; 800 U/mL = 80000 U totali Volume di infusione 100 mL Endpoint: o Pressione (infusione) in-linea o Misurazione di volume e area di gonfiore/bolla o Valutazione qualitativa di eritema e indurimento incluse fotografie</p>			

Procedura dello Studio

Prima dell'inizio dello studio, gli animali sono stati valutati per la salute generale e i pesi corporei sono stati presi. Il giorno dello studio, gli animali sono stati anestetizzati con gas isoflurano e messi in posizione supina dorsale su un tavolo chirurgico riscaldato, e sono stati mantenuti sotto gas isoflurano per l'intera durata della procedura. La regione addominale è stata pulita con isopropanolo ed asciugata strofinando con una garza pulita. I siti di infusione erano situati sulle regioni addominali sinistra e destra, ~ 3-4 cm verso la linea mediana a partire dall'estremità craniale della piega inguinale e poi ~ 6 cm cranialmente. I siti di infusione sono stati contrassegnati con un pennarello indelebile e poi fotografati. Gli articoli da testare sono stati acclimatati a temperatura ambiente prima delle infusioni. Gli articoli da testare sono stati aspirati in una siringa da 140 cc (> 100 mL per rendere conto del volume necessario per preparare la linea). Un trasduttore di pressione è stato attaccato alla siringa. Un set di estensione della linea con un ago per infusione con alette di 23 ga x 3/4 pollici attaccato è stato poi attaccato al trasduttore. L'hardware di infusione è stato poi preparato alla punta dell'ago. La siringa è stata caricata nella pompa a siringa. Questo processo è stato fatto in duplicato, con ciascuna siringa contenente un diverso articolo da testare. Gli aghi sono stati posizionati sottocutaneamente nei siti di infusione addominali sinistro e destro contrassegnati dell'animale. Il trasduttore di pressione in-linea è stato azzerato. Le registrazioni di pressione in-linea sono state

avviate e poi le due pompe a siringa sono state avviate simultaneamente per infondere 100 mL degli articoli da testare ad una velocità di flusso di 2 o 4 mL/min. Al completamento delle infusioni, è stata arrestata la raccolta dei dati di pressione in-linea, gli aghi rimossi, ed il foro dell'inserzione dell'ago sigillato con adesivo liquido VetBond per prevenire qualsiasi perdita. L'area ed il volume del gonfiore/ bolla del sito di infusione locale sono stati misurati utilizzando un calibro digitale. I siti di infusione locale sono stati valutati anche qualitativamente per l'aspetto (eritema), la dimensione del gonfiore/ bolla, e la compattezza (indurimento) utilizzando un sistema di punteggio a 5 punti (**Tabella 3**, **Tabella 4**, e **Tabella 5**, rispettivamente). Infine, sono state scattate fotografie dei siti di infusione.

Tabella 3.

Scala	Descrizione
0	Nessun eritema
1	Eritema molto leggero (a mala pena percettibile)
2	Eritema ben definito
3	Eritema da moderato a grave
4	Da eritema grave (rossore color barbabietola) a leggera formazione di escara

Tabella 4.

Scala	Descrizione
0	Nessun gonfiore
1	Gonfiore molto leggero
2	Gonfiore leggero
3	Gonfiore moderato
4	Gonfiore grave

Tabella 5.

Scala	Descrizione
0	Nessuna percettibile differenza di compattezza dopo l'iniezione
1	Molto poco sodo (a mala pena percettibile)
2	Debolmente sodo
3	Moderatamente sodo
4	Molto sodo

Calcoli e metodi statistici

Valutazione della Pressione di Infusione:

Le pressioni di infusione, come misurate attraverso un trasduttore in-linea, sono state registrate utilizzando LabChart 7, ed è stata calcolata la pressione media durante l'intero periodo di infusione.

Valutazione di Volume e Area di Gonfiore Locale:

Volume e area di gonfiore post-infusione sono stati misurati utilizzando un calibro digitale e registrati manualmente. Le misurazioni sono state registrate come lunghezza, larghezza, ed altezza. La formula per un ellissoide è stata utilizzata per calcolare il volume. $\text{Volume} = 4/3\pi ABC$, dove A = raggio di lunghezza, B = raggio di larghezza, C = raggio di altezza. Una semplice formula di lunghezza x larghezza è stata utilizzata per calcolare l'area.

Valutazione di Siti di Infusione Locale:

I siti di infusione locale sono stati valutati in modo indipendente da tre distinti esaminatori dopo il completamento dell'infusione. Ogni esaminatore ha valutato la pelle in ciascun sito di infusione per la presenza di eritema, per la dimensione del gonfiore locale, e per la compattezza. Un punteggio su una scala di classificazione da 0 a 4 è stato utilizzato per valutare le tre aree di valutazione, con un punteggio di 0 che rappresenta nessun effetto e 4 che è grave. Inoltre, i punteggi di eritema e gonfiore sono stati utilizzati per calcolare un indice di irritazione primaria (PII) che utilizza la formula $\text{PII} = \text{media} [(\sum \text{di grado dell'eritema} + \sum \text{di grado del gonfiore}) \div 2]$. Inoltre, i punteggi di gonfiore e compattezza sono stati utilizzati per calcolare un indice di gonfiore (SII) utilizzando la formula $\text{SII} = \text{media} [(\sum \text{di grado di gonfiore} + \sum \text{di grado di durezza}) \div 2]$. Un punteggio SII di ≤ 2 non è stato considerato essere indurito.

Analisi Statistiche:

I confronti statistici tra coorti sono stati eseguiti utilizzando un'analisi della varianza ad una via (ANOVA) con un test di confronti multipli di Tukey per variabili continue, e un test di Kruskal-Wallis non parametrico con un test di confronti multipli di Dunn per variabili categoriche. È stato determinato che la significatività statistica era $p < 0.05$.

RISULTATI

Valutazione della Pressione di Infusione:

100 mL di 20 mg/mL di IgG co-miscelati con 200, 500, o 800 U/mL di rHuPH20 sono stati somministrati nella regione addominale di mini-maiali dello Yucatan ad una velocità di flusso di 2 o 4 mL/min. Infusioni ad una velocità di flusso di 2 mL/min comportavano pressioni di infusione medie di 40.5 ± 0.1 , 40.0 ± 0.1 , e 37.1 ± 0.1 mmHg \pm SEM per IgG co-miscelata con 200, 500, e 800 U/mL di rHuPH20, rispettivamente. Infusioni ad una velocità di flusso di 4 mL/min hanno comportato pressioni medie di 49.9 ± 0.1 , 55.5 ± 0.1 , e 61.9 ± 0.2 mmHg \pm SEM per IgG co-miscelata con 200, 500, e 800 U/mL di rHuPH20, rispettivamente. Le pressioni di infusione non sono state statisticamente diverse tra le varie concentrazioni di rHuPH20 per ciascuna velocità di flusso e non sono state statisticamente diverse tra le due velocità di flusso.

Valutazione di Volume e Area di Gonfiore Locale:

Dopo il completamento di ciascuna infusione, il gonfiore locale del sito di infusione è stato contrassegnato se visibile e misurato utilizzando un calibro digitale. Per infusioni ad una velocità di flusso di 2 mL/min è risultato un volume di gonfiore medio di 36.6 ± 14.4 , 19.5 ± 6.5 , e 31.4 ± 6.0 cm³ \pm SEM per IgG co-miscelata con 200, 500, e 800 U/mL di rHuPH20, rispettivamente, di cui 10 delle 12 infusioni erano visibili e misurabili. Al contrario, il volume del gonfiore è stato rilevato solo in 3 delle 12 infusioni ad una velocità di flusso di 4 mL/min, uno in ciascuna concentrazione di rHuPH20. I volumi del gonfiore locale non sono stati statisticamente diversi tra le varie concentrazioni di rHuPH20 per ciascuna velocità di flusso e non sono stati statisticamente diversi tra le due velocità di flusso.

Oltre ai calcoli del volume, è stata misurata l'area di gonfiore locale visibile post-infusione. Per infusioni ad una velocità di flusso di 2 mL/min è risultata un'area di gonfiore media di 78.2 ± 26.4 , 59.7 ± 20.0 , e 94.9 ± 9.7 cm² \pm SEM per IgG co-miscelata con 200, 500, e 800 U/mL di rHuPH20, rispettivamente. Per infusioni ad una velocità di flusso di 4 mL/min sono risultate aree di gonfiore misurabile in solo 3 delle 12 infusioni, una in ciascuna concentrazione di rHuPH20. Le aree di gonfiore locale non sono state statisticamente diverse tra le varie concentrazioni di rHuPH20 per ciascuna velocità di flusso e non sono state statisticamente diverse tra le due velocità di flusso.

Valutazione di Siti di Infusione Locale:

Al completamento delle infusioni, ai siti di infusione locale è stato assegnato un punteggio qualitativo, da tre esaminatori separati, per la presenza e la gravità di eritema, la dimensione di gonfiore visibile, la compattezza fisica della pelle, l'indice di irritazione primaria (PII) che incorpora i punteggi di eritema e gonfiore, e l'indice di gonfiore/indurimento (SII) che incorpora i punteggi di gonfiore e compattezza per determinare se fosse presente indurimento.

È stata valutata la presenza e la gravità dell'eritema. Per infusioni ad una velocità di flusso di 2 mL/min è stato ottenuto un punteggio medio di eritema di (\pm SEM) di 0.8 ± 0.2 , 0.4 ± 0.1 , e 1.0 ± 0.3 per IgG co-miscelata con 200, 500, e 800 U/mL di rHuPH20, rispettivamente. Le infusioni ad una velocità di flusso di 4 mL/min hanno dato un punteggio medio di eritema (\pm SEM) di 0.3 ± 0.1 , 0.3 ± 0.1 , e 0.2 ± 0.1 per IgG co-miscelata con 200, 500, e 800 U/mL di rHuPH20, rispettivamente. I punteggi di eritema locale non sono stati statisticamente diversi tra le varie concentrazioni di rHuPH20 per ciascuna velocità di flusso e non sono stati statisticamente diversi tra le due velocità di flusso. È stata valutata la dimensione di gonfiore locale visibile, e per le infusioni ad una velocità di flusso di 2 mL/min è risultato un punteggio di gonfiore medio (\pm SEM) di 1.9 ± 0.4 , 1.4 ± 0.3 , e 2.0 ± 0.2 per IgG co-miscelata con 200, 500, e 800 U/mL di rHuPH20, rispettivamente. Infusioni ad una velocità di flusso di 4 mL/min avevano poco gonfiore visibile con un punteggio di eritema medio (\pm SEM) di 0.6 ± 0.3 , 0.9 ± 0.4 , e 0.9 ± 0.4 per IgG co-miscelata con 200, 500, e 800 U/mL di rHuPH20, rispettivamente. I punteggi di gonfiore locale non sono stati statisticamente diversi tra le varie concentrazioni di rHuPH20 per ciascuna velocità di flusso e non sono stati statisticamente diversi tra le due velocità di flusso, eccetto per IgG + 800 U/mL di rHuPH20 a 2 mL/min di velocità di flusso versus IgG + 200 U/mL di rHuPH20 a 4 mL/min di velocità di flusso ($p < 0.05$). È stata valutata la compattezza fisica della pelle nel sito di infusione locale, e per infusioni ad una velocità di flusso di 2 mL/min è risultato un punteggio medio di compattezza (\pm SEM) di 1.5 ± 0.3 , 1.0 ± 0.2 , e 1.4 ± 0.2 per IgG co-miscelata con 200, 500, e 800 U/mL di rHuPH20, rispettivamente. Infusioni ad una velocità di flusso di 4 mL/min avevano meno compattezza del sito di infusione locale con un punteggio medio di compattezza (\pm SEM) di 0.5 ± 0.3 , 0.7 ± 0.2 , e 0.7 ± 0.3 per IgG co-miscelata con 200, 500, e 800 U/mL di rHuPH20, rispettivamente. I punteggi di

compattezza del sito di infusione locale non sono stati statisticamente diversi tra le varie concentrazioni di rHuPH20 per ciascuna velocità di flusso e non sono stati statisticamente diversi tra le due velocità di flusso. L'indice di irritazione primario è stato calcolato sulla base dei punteggi di eritema e gonfiore. Le infusioni a 2 mL/min avevano un punteggio PII medio (\pm SEM) di 1.4 ± 0.3 , 0.9 ± 0.2 , e 1.5 ± 0.2 per IgG co-miscelata con 200, 500, e 800 U/mL di rHuPH20, rispettivamente. Infusioni ad una velocità di flusso di 4 mL/min avevano punteggi PII inferiori con un punteggio medio (\pm SEM) di 0.4 ± 0.2 , 0.6 ± 0.3 , e 0.5 ± 0.3 per IgG co-miscelata con 200, 500, e 800 U/mL di rHuPH20, rispettivamente. I punteggi PII non sono stati statisticamente diversi tra le varie concentrazioni di rHuPH20 per ciascuna velocità di flusso e non sono stati statisticamente diversi tra le due velocità di flusso, eccetto per IgG + 800 U/mL di rHuPH20 a velocità di flusso di 2 mL/min versus IgG + 200 U/mL di rHuPH20 a 4 mL/min di velocità di flusso ($p < 0.05$). L'indice di gonfiore/indurimento è stato calcolato sulla base dei punteggi di gonfiore e compattezza. Infusioni a 2 mL/min avevano un punteggio SII medio (\pm SEM) di 1.7 ± 0.3 , 1.2 ± 0.2 , e 1.7 ± 0.2 per IgG co-miscelata con 200, 500, e 800 U/mL di rHuPH20, rispettivamente. Infusioni ad una velocità di flusso di 4 mL/min avevano punteggi SII inferiori con un punteggio medio di 0.6 ± 0.3 , 0.8 ± 0.3 , e 0.8 ± 0.3 (\pm SEM) per IgG co-miscelata con 200, 500, e 800 U/mL di rHuPH20, rispettivamente. I punteggi SII non sono stati statisticamente diversi tra le varie concentrazioni di rHuPH20 per ciascuna velocità di flusso e non sono stati statisticamente diversi tra le due velocità di flusso. Sulla base dei valori SII medi (punteggio di ≤ 2), i siti di infusioni locali sono stati considerati non essere induriti. Infine, fotografie sono state scattate prima e dopo il completamento di ciascuna infusione.

Esempio 2. Uno studio multicentrico di fase 1b di incremento progressivo della dose open-label per valutare la Sicurezza e la Farmacocinetica di Somministrazione Sottocutanea di Daratumumab con l'aggiunta di Ialuronidasi Umana Ricombinante (rHuPH20) per il trattamento di Individui con Mieloma Multiplo Recidivato o Refrattario

Lo scopo dello studio è valutare la sicurezza, la farmacocinetica e l'attività antitumorale della somministrazione sottocutanea (SC) o endovenosa (IV) di daratumumab a partecipanti con mieloma multiplo recidivato o refrattario. Questo è uno studio multicentrico di Fase 1b di incremento progressivo della dose open-label, parte 2, per valutare

la sicurezza, la farmacocinetica e l'attività antitumorale della somministrazione SC o IV di daratumumab a partecipante con mieloma multiplo recidivato o refrattario. Saranno arruolati fino a circa 48 partecipanti nella parte 1 e 80 partecipanti nella parte 2. La fase di incremento progressivo della dose della parte 1 è progettata per determinare la dose di Fase 2 raccomandata (RP2D) sulla base di dati di sicurezza e farmacocinetica (PK) di daratumumab. Ciascuna parte dello studio avrà 3 fasi: una fase di screening, una fase di trattamento open-label e una fase di post-trattamento (dalla dose finale di farmaco dello studio fino alla settimana 8 post-trattamento). Nella Parte 1, i partecipanti saranno assegnati a coorti sequenziali di circa 8 partecipanti per ciascuna coorte. I partecipanti saranno somministrati con DARA PH20 (Daratumumab con l'Aggiunta di Ialuronidasi Umana Ricombinante [rHuPH20]) mediante infusione SC una volta alla settimana in Cicli 1 (ogni ciclo 28 giorni) e 2, ogni 2 settimane nei Cicli 3-6, e ogni 4 settimane nei successivi cicli di ciascuna coorte. Dopo che l'ultimo partecipante in ciascuna coorte completa il giorno 1 del Ciclo 3, il Team di Valutazione della Sicurezza (SET) valuterà i dati di sicurezza e di farmacocinetica secondo criteri definiti dal protocollo e prenderà la decisione se scalare la dose in una nuova coorte. Il set riesaminerà tutti i dati di sicurezza e di PK dalla Parte 1 per determinare la RP2D prima dell'inizio della Parte 2. Nella Parte 2, i partecipanti saranno assegnati casualmente 1:1 per ricevere la dose di Fase 2 raccomandata di DARA PH20 o la somministrazione IV di 1200 mg di DARA. Saranno valutate sicurezza, farmacocinetica, e attività antitumorale della somministrazione SC e IV di daratumumab. La sicurezza dei partecipanti sarà monitorata per tutto lo studio.

Misure di Esito Primario:

Concentrazioni Sieriche di Valle (Ctough) di Daratumumab (Arco Temporale: Fino a parte 2 ciclo 3 (ogni ciclo 28 giorni) Giorno 1). Ctough: la concentrazione prima della somministrazione del farmaco dello studio.

Parte 1 e 2: Numero di Partecipanti con Eventi Avversi (AE) e Seri AE (Arco Temporale: dallo screening fino al follow up (30 giorni dopo l'ultima somministrazione della dose)

Un evento avverso (AE) è qualsiasi evento medico indesiderato in un partecipante che ha ricevuto il farmaco dello studio indipendentemente dalla possibilità di relazione causale. Un serio evento avverso (SAE) è un AE che determina qualunque dei seguenti esiti o è giudicato significativo per qualunque altra ragione: morte; ricovero

ospedaliero iniziale o prolungato; esperienza pericolosa per la vita (rischio immediato di morte); persistente o significativa disabilità; anomalia congenita.

Misure di Esito Secondario:

- Parte 1 e 2: Concentrazione Sierica di Anticorpi verso Daratumumab e Ialuronidasi Umana Ricombinante (rHuPH20) (Plasma) (Arco Temporale: Circa 2 anni). Livelli sierici di anticorpi verso Daratumumab e rHuPH20 per la valutazione di potenziale immunogenicità.
- Parte 1 e 2: Percentuale di Partecipanti con Risposta Completa (CR) (Arco Temporale: Circa 2 anni). la CR è Definita come la proporzione di Partecipanti che ottengono una CR (inclusa sCR) secondo i criteri del International Myeloma Working Group (IMWG).
- Parte 1 e 2: Percentuale di Partecipanti Con Tasso di Risposta Complessiva (ORR) (Arco Temporale: Circa 2 anni). Il tasso di risposta complessiva è definito come la percentuale di partecipanti che raggiungono risposta completa o risposta parziale secondo i criteri del International Myeloma Working Group, durante o dopo il trattamento dello studio.
- Parte 1 e 2: Durata di Risposta (DR) (Arco Temporale: Circa 2 anni). La DR è il tempo dalla data di documentazione iniziale della risposta (CR o PR) alla data della prima PD documentata, come definita dai criteri IMWG.
- Parte 1 e 2: Tempo alla Risposta (Arco Temporale: Circa 2 anni). Il tempo alla risposta è definito come il tempo dalla data della prima dose di trattamento dello studio alla data della prima documentazione di risposta (CR o PR) osservata.

La **Tabella 6** mostra il design dello studio. La **Tabella 7** mostra gli interventi.

Tabella 6.

Numero o Nome del Braccio	Tipo	Descrizione
Parte 1: Coorte 1	Sperimentale	I partecipanti riceveranno DARAPH20, 1200 mg (daratumumab 1200 milligrammi (mg) con Ialuronidasi Umana Ricombinante [rHuPH20] 30000 U) tramite infusione sottocutanea (SC) una volta alla settimana in Cicli 1 (ogni ciclo è 28 giorni) e 2, ogni 2 settimane in Cicli 3-6, e poi ogni 4 settimane nei cicli successivi fino alla progressione della malattia.

Parte 1: Coorte 2	Sperimentale	I partecipanti riceveranno DARAPH20, 1800 mg (daratumumab 1800 milligrammi (mg) con Ialuronidasi Umana Ricombinante [rHuPH20] 45000 U) tramite infusione SC una volta alla settimana in Cicli 1 e 2, ogni 2 settimane in Cicli 3-6, e poi ogni 4 settimane nei cicli successivi fino a progressione della malattia.
Parte 1: Coorte 3	Sperimentale	I partecipanti riceveranno DARAPH20 ad una dose che sarà decisa dal Team di Valutazione dello Studio (SET) una volta alla settimana tramite infusione SC in Cicli 1 e 2, ogni 2 settimane in Cicli 3-6, e poi ogni 4 settimane nei cicli successivi fino a progressione della malattia. Anche fino a tre coorti facoltative aggiuntive (Coorti 3b, 3c, e 3d) possono essere arruolate per ripetere un livello di dose di daratumumab
Parte 2: Coorte 4	Sperimentale	Infusione SC di DARA-PH20 alla RP2D (dose di Fase 2 raccomandata) che viene identificata nella Parte 1 sarà somministrata ai partecipanti tramite infusione SC una volta alla settimana nei Cicli 1 e 2, ogni 2 settimane nei Cicli 3-6, e poi ogni 4 settimane nei cicli successivi fino a progressione della malattia.
Parte 2: Coorte 5	Sperimentale	Daratumumab 1200 mg sarà somministrato ai partecipanti per endovena (IV) una volta alla settimana in Cicli 1 e 2, ogni 2 settimane in Cicli 3-6, e poi ogni 4 settimane nei cicli successivi fino a progressione della malattia.

Tabella 7.

Nome Intervento	Tipo	Bracci Associati	Descrizione
Infusione Sottocutanea (SC) di Daratumumab	Farmaco	Parte 1: Coorte 1 Parte 1: Coorte 2 Parte 1: Coorte 3 Parte 2: Coorte 4	I partecipanti riceveranno infusione sc di Daratumumab una volta alla settimana in Cicli 1 (ognuno ciclo è 28 giorni) e 2, ogni 2 settimane in Cicli 3-6, e ogni 4 settimane nei cicli successivi.
Infusione SC di ialuronidasi umana ricombinante [rHuPH20])		Parte 1: Coorte 1 Parte 1: Coorte 2 Parte 1: Coorte 3 Parte 2: Coorte 4	I partecipanti riceveranno Ialuronidasi Umana Ricombinante [rHuPH20]) insieme con Daratumumab tramite infusione SC una volta alla settimana in Cicli 1 (ogni ciclo è 28 giorni) e 2, ogni 2 settimane in Cicli 3-6, e ogni 4 settimane in
Infusione Endovenosa (IV) di Daratumumab		Parte 2: Coorte 5	I partecipanti riceveranno infusione IV di 1200 mg di Daratumumab una volta alla settimana in Cicli 1 (ogni ciclo 28 giorni) e 2, ogni 2 settimane in Cicli 3-6, e ogni 4 settimane nei cicli successivi.

Eleggibilità

I partecipanti dimostravano di avere mieloma multiplo (MM) sintomatico (con sintomi) secondo i criteri diagnostici del International Myeloma Working Group (IMWG):

-Malattia misurabile come definita da qualunque dei seguenti: (a) mieloma da immunoglobulina (Ig) G (livello sierico di paraproteina monoclonale [proteina M] ≥ 1.0 grammo/decilitro o livello di proteina M nell'urina superiore o uguale a (\geq) 200 milligrammi[mg]/24 ore[h]; o (b) mieloma multiplo da IgA, IgD, o IgE (livello di

proteina M nel siero - ≥ 0.5 g/dL o livello di proteina M nell'urina ≥ 200 mg/24 h); o (c) mieloma multiplo da catena leggera (catena leggera libera sierica di immunoglobulina ≥ 10 mg/dL e rapporto anormale di catena leggera libera sierica kappa/lambda di immunoglobulina)

- il partecipante deve avere un punteggio di Performance Status del Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG) di 0, 1, o 2

-i valori clinici di laboratorio di pretrattamento devono soddisfare parametri definiti dal protocollo durante la fase di screening

-l'uomo, che è sessualmente attivo con una donna in età fertile e non ha subito vasectomia, deve acconsentire all'uso di un metodo contraccettivo adeguato come giudicato appropriato dallo Sperimentatore, e deve anche acconsentire a non donare sperma durante lo studio e 4 mesi dopo l'ultima dose di daratumumab

Criteri di Esclusione:

-il partecipante ha ricevuto daratumumab o altre terapie contro anti-cluster di differenziazione 38 (anti-CD38) in precedenza

-il partecipante ha ricevuto trattamento anti-mieloma entro 2 settimane prima del Giorno 1 del Ciclo 1

-il partecipante ha ricevuto precedentemente un trapianto di cellule staminali allogeniche; o il partecipante ha ricevuto un trapianto di cellule staminali autologhe (ASCT) entro 12 settimane prima del Giorno 1 Ciclo 1

-Il partecipante ha una storia di tumore maligno (diverso da mieloma multiplo) entro 5 anni prima del Giorno 1 del Ciclo 1 (le eccezioni sono carcinomi a cellule squamose e basali della pelle e il carcinoma in situ della cervice, o tumore maligno che a parere dello Sperimentatore, insieme al monitoraggio medico dello sponsor, è considerato guarito con rischio di recidiva minimo)

-il partecipante mostra segni clinici di coinvolgimento meningeo di mieloma multiplo

Sesso: Entrambi

Limite di età: 18 anni

Accetta volontari sani: No

Lettura ad interim della Parte 1 (cutoff dei dati 21 LUGLIO 2016 per sicurezza/dati demografici/storia di malattia e 28 LUGLIO 2016 per i dati sull'efficacia)

Metodi

I pazienti avevano RRMM con ≥ 2 linee di terapia precedenti includenti un inibitore del proteasoma (PI) e un farmaco immunomodulatorio (IMiD). La Parte 1 dello studio di parte 2 ha arruolato coorti sequenziali a 1200 mg e 1800 mg di livelli di dose di DARA per determinare la dose SC raccomandata per Parte 2. DARA-PH20 è stato somministrato in cicli di trattamento di 4 settimane: QW (una volta alla settimana) per 8 settimane, Q2W (una volta ogni 2 settimane) per 16 settimane, e Q4W (una volta ogni 4 settimane) successivamente. DARA-PH20 è stato infuso in dosi di 1200 mg in 60 mL nel corso di 20 min o 1800 mg in 90 mL nel corso di 30 min, attraverso una pompa a siringa a rotazione a siti sull'addome. Medicinali pre- e/o post-infusione includevano paracetamolo, difenidramina, montelukast, e metilprednisolone. Nella parte 2, i pazienti saranno assegnati casualmente 1:1 per ricevere la dose raccomandata di fase 2 (RP2D) di DARA-PH20 SC o DARA IV (16 mg/kg). La RP2D di DARA-PH20 sarà selezionata sulla base di un riesame cumulativo dei dati di farmacocinetica e di sicurezza ottenuti dalla parte 1 e dovrebbe raggiungere una Ctrough sierica massima durante il dosaggio settimanale che è simile o superiore a quella osservata per la dose IV 16 mg/kg approvata. Endpoint primari sono stati Ctrough di DARA fino a Giorno 1 del ciclo 3 e sicurezza. Endpoint secondari includevano tasso di risposta complessiva (ORR).

Risultati

Ad oggi, 41 pazienti sono stati trattati nella parte 1 con DARA-PH20 SC ai livelli di dose di 1200 mg (n=8) e 1800 mg (n=33). Reazioni correlate all'infusione (IRR) sono state riportate in 9/41 pazienti (22%) e sono state per lo più di 1/2 grado di gravità inclusi brividi, febbre, rigidità, vomito, prurito, edema della lingua, dolore al petto non cardiaco e respiro sibilante. Un paziente ha sviluppato dispnea di grado 3 e 1 paziente ha richiesto ospedalizzazione dovuta a febbre e a brividi (entrambi di grado 2) dopo la prima infusione. Tutte le IRR sviluppate durante o entro 6 ore dalla prima infusione SC sono state controllate con trattamento con antistaminico, corticosteroide, antiemetico, o broncodilatatore. Non sono state riportate IRR con le successive infusioni. Nel complesso, il profilo di eventi avversi di DARA-PH20 era coerente con quello di DARA IV. Eventi avversi correlati al farmaco di

Grado 3 o superiore sono stati riportati in 5/41 (12%) pazienti inclusi affaticamento (2 pazienti), influenza, ipertensione, dispnea, e sindrome da lisi tumorale. La somministrazione SC di DARA-PH20 è stata ben tollerata nel sito di iniezione della parete addominale con 3/41 (7%) pazienti che riportano eritema di grado 1, indurimento, o sensazione di bruciore. L'analisi mostrava una Ctrough massima superiore nella coorte di 1800 mg in confronto alla Ctrough massima ottenuta dopo DARA IV (16 mg/kg).

Nella coorte di 1200 mg di 8 pazienti (mediana di 5 precedenti linee di terapia [range 2-10]; ASCT precedente, 63%; refrattario solo per PI, 0%; refrattario solo per IMiD, 13%; doppio refrattario per PI e IMiD, 63%) una ORR del 25% è stata osservata incluse 2 risposte parziali (PR). Il tempo alla risposta mediano è stato 14 (range 8-20) settimane. Tra 17 pazienti con risposta valutabile nella coorte di 1800 mg con valutazioni del giorno 1 ciclo 3 (mediana di 4 precedenti linee di terapia [range 2-7]; ASCT precedente, 76%; refrattario solo per PI, 6%; refrattario solo per IMiD, 12%; doppio refrattario per PI e IMiD, 65%) è stata osservata una ORR del 41% costituita da 3 risposte parziali e 4 PR molto buone. Il tempo mediano alla risposta è stato 4 settimane (range 4-8).

Conclusioni:

DARA-PH20 SC è stato ben tollerato e dava concentrazioni sieriche di valle simili o superiori rispetto a DARA IV con un tasso inferiore di IRR rispetto a DARA IV su un tempo di infusione significativamente più breve. I dati preliminari suggeriscono che in questa popolazione di pazienti DARA-PH20 SC può consentire tassi di risposta simili alla monoterapia con DARA IV. Il livello di dose di 1800 mg di DARA-PH20 è stato selezionato come la RP2D per la parte 2 dello studio. Questi dati iniziali supportano ulteriormente lo studio di DARA SC nelle sperimentazioni cliniche.

Esempio 3. Sviluppo di co-formulazioni di daratumumab e ialuronidasi

Varie co-formulazioni sono state valutate al fine di stabilire la stabilità fisicochimica complessiva e la somministrazione di daratumumab e rHuPH20 nel prodotto co-formulato. È stato valutato l'effetto delle concentrazioni del costituente attivo e/o degli eccipienti nelle formulazioni in alcuni degli studi di stabilità e/o su animali (stabilità di scaffale, stabilità all'agitazione e in studi di infusione nei maiali). La **Tabella 8** fornisce un riepilogo delle formulazioni che sono state utilizzate nei vari studi.

Tabella 8.

Formulazione	Daratumumab (mg/mL)	rHuPH20 (U/mL)	His (mM)	Sorbitolo/Saccarosio (mM)	PS20 (%p/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: istidina Met: metionina							

I range degli eccipienti e dei costituenti attivi nelle formulazioni testate sono mostrati nella **Tabella 9**.

Tabella 9.

Componente della Formulazione	Range
rHuPH20	0-2000 U/mL
Daratumumab	100-120 mg/mL
Istidina	10 mM
Sorbitolo	100-300 mM
Saccarosio	0-200 mM
Polisorbato-20 (PS20)	0.0-0.04 % (p/v)
Metionina	0 - 2 mg/mL

Le formulazioni generate sono state testate nei vari saggi per le loro caratteristiche, inclusi valutazione di particelle sub-visibili, imaging a micro flusso (MFI), cromatografia di esclusione dimensionale (SEC), focalizzazione isoelettrica capillare (cIEF), SDS-PAGE (non riducente e riducente), mappatura degli epitopi, volume estraibile, torbidità, osmolalità, e pH.

Particelle sub-visibili (Sub-vis): il numero di particelle sub-visibili di dimensioni $\geq 10 \mu\text{m}$ o $\geq 25 \mu\text{m}$ è costituito solitamente da aggregati di molecole proteiche e può essere analizzato tramite il metodo HIAC di oscuramento della luce per cui la soluzione viene passata attraverso un piccolo orifizio e l'arresto della luce fornisce le informazioni sulla dimensione delle particelle che attraversa.

MFI: un metodo di oscuramento ortogonale alla luce, l'imaging a micro flusso (MFI) acquisisce immagini istantanee di particelle che fluiscono e ri-converte nel numero di particelle presenti in un particolare volume di liquido. Questo metodo fornisce informazioni circa i grandi aggregati di proteine presenti nella soluzione.

SEC: Un metodo di separazione cromatografica per esclusione dimensionale per cui si utilizza una colonna per distribuire le molecole all'interno della soluzione che scorre attraverso di essa in base al loro ampio range di dimensioni. Monomeri, aggregati e frammenti eluiscono in tempi differenti dalla colonna e quindi le loro relative proporzioni in un campione possono essere quantificate utilizzando un rivelatore UV standard.

cIEF: la focalizzazione iso-elettrica capillare distribuisce le molecole secondo la carica sulla molecola ed è un buon indicatore della stabilità chimica complessiva. Ad esempio la deamidazione può comportare una variazione nella carica della molecola e quindi sarebbe rilevata da questo metodo. Il metodo fornisce un'idea della % totale di molecole acide, basiche e intatte presenti nella soluzione.

SDS (condizioni riducenti e non riducenti): il metodo del SDS fornisce informazioni sulla stabilità fisica della molecola. L'SDS fornisce una misura delle specie intatte, aggregate e frammentate presenti nella soluzione. L'SDS non riducente fornisce informazioni sui rispettivi costituenti intatti, aggregati e frammentati dell'anticorpo mentre l'SDS riducente (dopo rottura di disolfuro) fornisce le stesse informazioni per le catene pesanti e leggere dell'anticorpo.

Mappatura degli epitopi: la mappatura degli epitopi è una tecnica fondamentale per lo studio della struttura primaria delle proteine. Per prodotti farmaceutici a base di proteine ricombinanti, la mappatura degli epitopi viene utilizzata per la prova iniziale di caratterizzazione della struttura. La mappatura degli epitopi fornisce anche informazioni su modificazioni post-traduzionali quali deamidazione, ossidazione etc.

Volume estraibile: il metodo fornisce informazioni sulla/sul quantità/volume di liquido che può essere prelevata/o dalla fiala dopo il rispettivo punto temporale.

Torbidità: Un metodo basato sulla diffusione della luce per valutare la stabilità fisica della soluzione. Un aumento nella dimensione delle particelle o degli aggregati comporta un aumento nel segnale di diffusione della luce ed è quindi rilevato come torbidità (opalescenza) della soluzione. La torbidità viene misurata in Unità Nefelometriche di Torbidità (NTU).

Osmolalità: fornisce una misura dell'attività osmotica totale che dipende dalla vera attività totale delle molecole (coefficiente di attività moltiplicato per la concentrazione). La soluzione deve essere vicina alla osmolalità del siero per essere iniettabile.

pH: fornisce un'idea della stabilità complessiva ed è importante che il pH rimanga costante per tutta la shelf-life.

Attività enzimatica di rHuPH20: La determinazione dell'attività ialuronidasi si basa sulla formazione di un precipitato quando l'acido ialuronico (HA) si lega con siero acidificato. L'attività viene misurata incubando la ialuronidasi con HA per 30 minuti in un formato di piastra a 96 pozzetti a 37°C e poi precipitando l'HA non digerito con l'aggiunta di siero acidificato. La risultante torbidità viene misurata a 640 nm e la diminuzione della torbidità derivante da clivaggio enzimatico del substrato HA è una misura dell'attività ialuronidasi.

Stabilità di scaffale della Formulazione 1 (100 mg/mL di Daratumumab, 10 mM di Istidina, 300 mM di Sorbitolo, 0.04% di PS20, 2mg/mL di Metionina, 500U/mL di PrHuh20, pH 5.5) è stata valutata utilizzando i saggi descritti. I campioni sono stati messi in stabilità in fiale 25R (riempite a 16 mL di volume) a diverse temperature (5, 25 e 40°C) e le fiale sono state prese per l'analisi utilizzando vari saggi in diversi punti temporali (0, 1, 2, 3, 4, 5 e/o 6 mesi). I dati indicano che il prodotto co-formulato è stabile nelle condizioni di conservazione sia rispetto al Daratumumab sia rispetto a rHuPH20 come indicato dai vari saggi. Il profilo come osservato per particelle, colore, torbidità, sec etc. era molto simile a anticorpi stabili a buon comportamento e i dati sono paragonabili ai dati di stabilità di alcune formulazioni commerciali di mAb.

La **Tabella 10** mostra il numero di particelle nella Formulazione 1 nel tempo come valutato utilizzando HIAC.

La **Tabella 11** mostra il numero di particelle nella Formulazione 1 nel tempo come valutato utilizzando MFI.

La **Tabella 12** mostra il pH della Formulazione 1 nel tempo.

La **Tabella 13** mostra la torbidità della Formulazione 1 nel tempo.

La **Tabella 14** mostra la proporzione di aggregati ad alto peso molecolare e frammenti a basso peso molecolare nella Formulazione 1 nel tempo.

La **Tabella 15** mostra le specie acide e basiche nella Formulazione 1 nel tempo come valutato utilizzando cIEF.

La **Tabella 16** mostra la percentuale (%) di purezza della Formulazione 1 nel tempo come valutata utilizzando SDS-PAGE ridotta.

La **Tabella 17** mostra la percentuale (%) di purezza della Formulazione 1 nel tempo come valutata utilizzando SDS-PAGE non ridotta.

La **Tabella 18** mostra la percentuale (%) di bioattività di daratumumab e di attività enzimatica di rhPH20 nella Formulazione 1 nel tempo.

Tabella 10.

Temperatura di Conservazione (°C)	Conta Cumulativa Media / mL di dimensioni delle particelle $\geq 10\mu\text{M}$ o $\geq 25\mu\text{M}$					
	0 mesi		3 mesi		6 mesi	
	$\geq 10\mu\text{m}$	$\geq 25\mu\text{m}$	$\geq 10\mu\text{m}$	$\geq 25\mu\text{m}$	$\geq 10\mu\text{m}$	$\geq 25\mu\text{m}$
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		

Tabella 11.

Temperatura (°C)	0 mesi	3 mesi			6 mesi	
	5	5	25	40	5	25
Particelle/mL $\geq 2 - < 10\mu\text{m}$ ECD	539	1155	3668	3371	686	3581
Particelle/mL $\geq 10 - < 25\mu\text{m}$ ECD	9.3	39	93	80	36	105
Particelle/mL $\geq 25 - < 70\mu\text{m}$ ECD	1.4	2.6	13	9.3	7.4	7.2
Particelle/mL $\geq 70\mu\text{m}$ ECD	0.5	0.2	0.2	0.2	0.0	0.5

Tabella 12.

Temperatura di Conservazione	pH nel Tempo di Conservazione (mesi)				
	0m	1m	2m	3m	6m

(°C)					
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: mese					
NA: non analizzato					

Tabella 13.

Temperatura di Conservazione (°C)	NTU Media nel Tempo di Conservazione (mesi)				
	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: mese					
NTU: Unità Nefelometrica di Torbidità					
NA: non analizzato					

Tabella 14.

Tempo di Conservazione (mesi)	Temperatura di Conservazione (°C)	Percentuale (%) di specie		
		HMW	Monomero	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: specie ad alto peso molecolare				
LMW: specie a basso peso molecolare				
NA: non analizzato				

Tabella 15.

Tempo di Conservazione (mesi)	Temperatura di Conservazione (°C)	% picco principale	% picchi acidi	% picchi basici
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: non analizzato

Tabella 16

Temperatura di Conservazione (°C)	% Purezza nel Tempo di Conservazione (in mesi)				
	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: mese

NA: non analizzato

Tabella 17.

Temperatura di Conservazione (°C)	% Purezza nel Tempo di Conservazione (in mesi)				
	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: mese

NA: non analizzato

Tabella 18.

Molecola	Saggio	Tempo di Conservazione e Temperatura		
		0 mesi	6 mesi	6 mesi
			5°C	25°C
Daratumumab	ADCC*	102	103	83
	CDC*	95	101	93
PH20	Attività enzimatica**	574	600 o 584?	609
* percentuale controllo				
**U/mL				

La stabilità all'agitazione (scuotimento) della Formulazione 1 è stata anche valutata utilizzando i suddetti saggi per caratterizzare le formulazioni e studiare l'effetto delle concentrazioni di PS variando solo le concentrazioni di PS20 in quella formulazione (Formulazioni 1, 3, 4, 5 e 6 nella **Tabella 8** dove PS20 è stato variato a 0, 0.01, 0.02, 0.04, 0.06%). I dati hanno indicato che la co-formulazione era stabile nelle condizioni di agitazione sia rispetto al Daratumumab sia pure rispetto all'enzima come indicato dai vari saggi. Il profilo come osservato per le particelle, il colore, la torbidità, la sec etc. è stato molto simile a anticorpi stabili a buon comportamento per tutte le concentrazioni di PS eccetto allo 0% (la formulazione di PS20 allo 0% aveva particelle e non era stabile) e i dati erano paragonabili ai dati di stabilità di alcune formulazioni di mAb commerciali (dati non mostrati).

La stabilità di scaffale della Formulazione 2 (120 mg/mL di daratumumab, 10 mM di Istidina, 300 mM di Sorbitolo, 0.04% di PS20, 1 mg/mL di Metionina, 2000U/mL di rhuPH20, pH 5.5) è stata valutata utilizzando i saggi descritti. I campioni sono stati messi in stabilità in fiale 25R riempite a 13.27 mL di volume con sovrariempimento (1500 mg dose) a diverse temperature e le fiale sono state prese per l'analisi utilizzando i vari saggi come di seguito. I dati raccolti hanno indicato che il prodotto co-formulato è stabile nelle condizioni di conservazione rispetto sia al daratumumab sia al rHuPH20. Il profilo come osservato per particelle, colore, torbidità, sec etc. è stato molto simile a anticorpi stabili a buon comportamento e i dati erano paragonabili ai dati di stabilità di alcune formulazioni di mAb commerciali. rhuPH20 è molto suscettibile a temperature superiori e perde tutta l'attività molto rapidamente quando conservata a 40°C. La **Tabella 19** mostra le caratteristiche della formulazione.

Tabella 19.

Caratteristiche e/o saggio	Tempo di Conservazione, Temperatura e Umidità Relativa (UR)		
	0 mesi	1 mese	1 mese
	5°C	40°C/ 75%UR	25°C/ 60%UR
Conta Cumulativa Media/mL di dimensioni delle particelle 2-10 µm	58.89	375.68	4285.81
Conta Cumulativa Media/mL di dimensioni delle particelle 10-25 µm	3.34	12.96	1.98
Conta Cumulativa Media/mL di dimensioni delle particelle ≥25 µm	1.23	.49	.12
PS20 (% p/v)	0.038	0.02	0.03
pH	5.6	5.6	5.6
Torbidità (NTU)	5	11	6
% Purezza (cSDS, riducente)	98.4	98.6	98.1
% AGHC, catena pesante aglicosilata (cSDS, riducente)	0.4	0.5	0.4
% Purezza (cSDS, non riducente)	97.7	95.2	97.7
% monomero, SE-HPLC	99.1	98.0	98.8
% aggregato, SE-HPLC	0.9	1.6	1.1
% frammenti SE-HPLC	<0.10	0.4	<0.10
Bioattività di Daratumumab, CDC (% controllo)	105	88	99
Bioattività di Daratumumab, ADCC (% controllo)	99	73	103
Attività di rHuPH20 (U/mL)	2205	0	2258

Le formulazioni 3-8 sono state testate per la loro stabilità di scaffale o stabilità all'agitazione utilizzando alcuni o tutti i saggi descritti. I dati hanno indicato che le Formulazioni 3-8 erano stabili nelle condizioni valutate sia rispetto al daratumumab sia pure rispetto a HuPH20 (formulazioni 7 e 8 non avevano rHuPH20). La metionina è stata inclusa nelle formulazioni 1-6 e 9-12 per fornire stabilità all'ossidazione aggiunta. Il profilo come osservato per particelle, colore, torbidità, sec etc. era molto simile a anticorpi stabili a buon comportamento e i dati erano paragonabili ai dati di stabilità di alcune formulazioni commerciali di mAb (dati non mostrati).

La stabilità all'agitazione (scuotimento) della Formulazione 1 è stata anche valutata utilizzando i suddetti saggi per caratterizzare le formulazioni e studiare l'effetto di concentrazioni di PS20 variando solo le concentrazioni di

PS20 in quella formulazione (Formulazioni 1, 3, 4, 5 e 6 nella **tabella 8** dove PS20 è stato variato a 0, 0.01, 0.02, 0.04, 0.06%). I dati hanno indicato che la co-formulazione era stabile nelle condizioni di agitazione sia rispetto a daratumumab sia rispetto a rHuPH20 come indicato dai vari saggi. Il profilo come osservato per particelle, colore, torbidità, sec etc. era molto simile a anticorpi stabili a buon comportamento per tutte le concentrazioni di PS eccetto allo 0% e i dati erano paragonabili ai dati di stabilità di alcune formulazioni di mAb commerciali (dati non mostrati).

Le formulazioni 9-12 sono state valutate anche per la valutazione della somministrazione sottocutanea di daratumumab con concentrazioni variabili di enzima in un modello suino come descritto nell'Esempio 2. Questi studi sono stati condotti per determinare una concentrazione adatta di rhPH20 per veicolare 16 mL di daratumumab. Gli end-point sono stati pressione di infusione, area di gonfiore o bolla se misurabile e valutazione qualitativa del sito. È stato osservato un aumento dipendente dalla dose nella pressione di infusione. Tutte le concentrazioni di rhPH20 testate (50, 500, 2000, 5000 U/mL) erano sufficienti per veicolare 16 mL di daratumumab.

LISTA SEQUENZE

<110> Janssen Biotech, Inc.
Jansson, Richard
Kumar, Vineet

<120> Formulazioni sottocutanee di anticorpi anti-CD38 e loro usi

<130> JBI5070WOPCT

<140> Da assegnare
<141> 01-11-2016

<150> 62/250,016
<151> 03-11-2015

<160> 22

<170> PatentIn versione 3.5

<210> 1
<211> 300
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 1

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
 <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
 <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

<211> 122
 <212> PRT
 <213> Sequenza Artificiale

 <220>
 <223> daratumumab VH

 <400> 4

 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
 <213> Sequenza Artificiale

 <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

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
 <213> Sequenza Artificiale

<220>
 <223> daratumumab HCDR1

<400> 6

Ser Phe Ala Met Ser
 1 5

<210> 7
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Sequenza Artificiale

<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

<210> 8
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> Sequenza Artificiale

<220>
 <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
 <212> PRT
 <213> Sequenza Artificiale

<220>
 <223> Daratumumab LCDR1

<400> 9

Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr Leu Ala
 1 5 10

<210> 10
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Sequenza Artificiale

<220>
 <223> DASNRAT

<400> 10

Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr
 1 5

<210> 11
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Sequenza Artificiale

<220>
 <223> Daratumumab LCDR3

<400> 11

Gln Gln Arg Ser Asn Trp Pro Pro Thr Phe
 1 5 10

<210> 12
 <211> 452
 <212> PRT
 <213> Sequenza Artificiale

<220>
 <223> Daratumumab catena pesante

<400> 12

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
<213> Sequenza Artificiale

<220>
<223> Daratumumab catena leggera

<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
<213> -Sequenza Artificiale

<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

<212> PRT

<213> Sequenza Artificiale

<220>

<223> mAb024 VH

<400> 16

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

<213> Sequenza Artificiale

<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

Tyr Asp Ala Ser Asn Arg Ala Ser Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly

<223> MRO202 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

<210> 20

<211> 120

<212> PRT

<213> Sequenza Artificiale _

<220>

<223> Isatuximab VH

<400> 20

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
<211> 107
<212> PRT
<213> Sequenza Artificiale

<220>
<223> Isatuximab VL

<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
<213> Sequenza Artificiale

<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

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

RIVENDICAZIONI

1. Composizione farmaceutica comprendente un anticorpo anti-CD38 e una ialuronidasi, in cui:

- a) l'anticorpo comprende una regione variabile della catena pesante (VH) di SEQ ID NO: 4 e una regione variabile della catena leggera (VL) di SEQ ID NO: 5; e
- b) la composizione comprende circa 1800 mg dell'anticorpo anti-CD38 e da circa 30000 U a circa 45000 U della ialuronidasi.

2. Composizione farmaceutica secondo la rivendicazione 1:

- a) comprendente inoltre un carrier farmaceuticamente accettabile; e/o
- b) che è una combinazione fissa o una combinazione non fissa.

3. Composizione farmaceutica secondo la rivendicazione 1 o la rivendicazione 2, comprendente:

- a) da circa 20 mg/mL a circa 160 mg/mL dell'anticorpo anti-CD38;
- b) da circa 20 mg/mL a circa 140 mg/mL dell'anticorpo anti-CD38;
- c) da circa 20 mg/mL a circa 120 mg/mL dell'anticorpo anti-CD38;
- d) da circa 40 mg/mL a circa 120 mg/mL dell'anticorpo anti-CD38;
- e) da circa 60 mg/mL a circa 120 mg/mL dell'anticorpo anti-CD38;
- f) da circa 80 mg/mL a circa 120 mg/mL dell'anticorpo anti-CD38; o
- g) da circa 100 mg/mL a circa 120 mg/mL dell'anticorpo anti-CD38.

4. Composizione farmaceutica secondo qualunque delle rivendicazioni da 1 a 3, comprendente

- a) circa 20 mg/mL dell'anticorpo anti-CD38;
- b) circa 100 mg/mL dell'anticorpo anti-CD38; o
- c) circa 120 mg/mL dell'anticorpo anti-CD38.

5. Composizione farmaceutica secondo qualunque delle rivendicazioni da 1 a 4, comprendente:

- a) da circa 500 U/ml a circa 5000 U/ml della ialuronidasi;
- b) da circa 1000 U/ml a circa 5000 U/ml della ialuronidasi;
- c) da circa 2000 U/ml a circa 5000 U/ml della ialuronidasi;

d) da circa 500 U/ml a circa 2000 U/ml della ialuronidasi; o

e) da circa 1000 U/ml a circa 2000 U/ml della ialuronidasi.

6. Composizione farmaceutica secondo qualunque delle rivendicazioni da 1 a 5, comprendente

a) circa 500 U/ml della ialuronidasi;

b) circa 2000 U/ml della ialuronidasi; o

c) circa 5000 U/ml della ialuronidasi.

7. Composizione farmaceutica secondo qualunque delle rivendicazioni da 1 a 6, comprendente circa 45000 U della ialuronidasi.

8. Composizione farmaceutica secondo qualunque delle rivendicazioni da 1 a 7, in cui l'anticorpo anti-CD38 comprende una catena pesante di SEQ ID NO: 12 e una catena leggera di SEQ ID NO: 13.

9. Composizione farmaceutica secondo qualunque delle rivendicazioni da 1 a 8, comprendente da circa 20 mg/mL a circa 120 mg/mL dell'anticorpo anti-CD38 comprendente la VH di SEQ ID NO: 4 e la VL di SEQ ID NO: 5 in circa 25 mM di acido acetico, circa 60 mM di sodio cloruro, circa 140 di mannitolo e circa 0.04% p/v di polisorbato-20 (PS-20); a pH circa 5.5; e da circa 30000U a circa 45000 U della ialuronidasi in 10 mM di L-istidina, 130 mM di NaCl, 10 mM di L-metionina, 0.02% di Polisorbato-80, pH 6.5;

facoltativamente in cui la ialuronidasi è rHuPH20 (SEQ ID NO: 22), facoltativamente che è una combinazione non fissa.

10. Composizione farmaceutica secondo qualunque delle rivendicazioni da 1 a 8, comprendente:

a) da circa 20 mg/mL a circa 120 mg/mL dell'anticorpo anti-CD38 comprendente la VH di SEQ ID NO: 4 e la VL di SEQ ID NO: 5 in circa 25 mM di acido acetico, circa 60 mM di sodio cloruro, circa 140 di mannitolo e circa 0.04% p/v di polisorbato-20 (PS-20); a pH circa 5.5; e

b) circa 45000 U della ialuronidasi in 10 mM di L-istidina, 130 mM di NaCl, 10 mM di L-metionina, 0.02% di Polisorbato-80, pH 6.5;

facoltativamente in cui la ialuronidasi è rHuPH20 (SEQ ID NO: 22), facoltativamente che è una combinazione non fissa.

11. Composizione farmaceutica secondo qualunque delle rivendicazioni da 1 a 8, comprendente:

a) da circa 1 mg/mL a circa 180 mg/mL dell'anticorpo anti-CD38 comprendente la VH di SEQ ID NO: 4 e la VL di SEQ ID NO: 5;

b) da circa 50 U/ml a circa 5000 U/ml della ialuronidasi;

c) da circa 5 mM a circa 50 mM di istidina; e

d) da circa 50 mM a circa 400 mM di sorbitolo;

facoltativamente:

i) comprendente inoltre da circa 0.01% p/v a circa 0.1% di PS-20; e/o da circa 0.1 mg/mL a circa 2.5 mg/mL di metionina; o

ii) comprendente da circa 100 mg/mL a circa 120 mg/mL dell'anticorpo anti-CD38 comprendente la VH di SEQ ID NO: 4 e la VL di SEQ ID NO: 5; da circa 50 U/ml a circa 5000 U/ml della ialuronidasi; circa 10 mM di istidina; e da circa 100 mM a circa 300 mM di sorbitolo; facoltativamente comprendente inoltre da circa 0.01% p/v a circa 0.04% p/v di PS-20; e da circa 1 mg/mL a circa 2 mg/mL di metionina.

12. Composizione farmaceutica secondo qualunque delle rivendicazioni da 1 a 8 o 11, comprendente circa 100 mg/mL dell'anticorpo anti-CD38 comprendente la VH di SEQ ID NO: 4 e la VL di SEQ ID NO: 5; circa 2000 U/ml di rHuPH20; circa 10 mM di istidina; circa 300 mM di sorbitolo; circa 0.04% p/v di PS-20; e circa 1 mg/mL di metionina; pH circa 5.5.

13. Composizione farmaceutica secondo qualunque delle rivendicazioni da 1 a 12:

a) in cui la ialuronidasi è rHuPH20 (SEQ ID NO: 22); e/o

b) che è in una forma di unità di dosaggio.

14. Composizione farmaceutica per uso in un metodo di trattamento di un cancro in un individuo, in cui il metodo comprende somministrare la composizione farmaceutica per via sottocutanea all'individuo e in cui la composizione farmaceutica comprende un anticorpo anti-CD38 e una ialuronidasi, in cui:

a) l'anticorpo comprende una regione variabile della catena pesante (VH) di SEQ ID NO: 4 e una regione variabile della catena leggera (VL) di SEQ ID NO: 5; e

b) la composizione comprende circa 1800 mg dell'anticorpo anti-CD38 e da circa 30000 U a circa 45000 U della ialuronidasi.

15. Composizione farmaceutica per uso secondo la rivendicazione 14:

a) in cui la composizione farmaceutica è una combinazione fissa o una combinazione non fissa;

b) in cui la composizione farmaceutica comprende da circa 20 mg/mL a circa 160 mg/mL, da circa 20 mg/mL a circa 140 mg/mL, da circa 20 mg/mL a circa 120 mg/mL, da circa 40 mg/mL a circa 120 mg/mL, da circa 60 mg/mL a circa 120 mg/mL, da circa 80 mg/mL a circa 120 mg/mL, da circa 100 mg/mL a circa 120 mg/mL, circa 20 mg/mL, circa 100 mg/mL o circa 120 mg/mL dell'anticorpo anti-CD38;

c) in cui la composizione farmaceutica comprende da circa 500 U/ml a circa 5000 U/ml, da circa 1000 U/ml a circa 5000 U/ml, da circa 2000 U/ml a circa 5000 U/ml, da circa 50 U/ml a circa 2000 U/ml, da circa 500 U/ml a circa 2000 U/ml, da circa 1000 U/ml a circa 2000 U/ml, circa 500 U/ml, circa 2000 U/ml o circa 5000 U/ml della ialuronidasi; e/o

in cui la composizione farmaceutica comprende circa 1,800 mg dell'anticorpo anti-CD38 e circa 45000 U della ialuronidasi.

16. Composizione farmaceutica per uso secondo la rivendicazione 14 o la rivendicazione 15, in cui la composizione farmaceutica comprende:

a) circa 20 mg/mL dell'anticorpo anti-CD38 comprendente la VH di SEQ ID NO: 4 e la VL di SEQ ID NO: 5, da circa 30000 U a circa 45000 U della ialuronidasi, circa 25 mM di acido acetico, circa 60 mM di sodio cloruro, circa 140 mM di mannitolo; e circa 0.04% p/v di polisorbato-20 (PS-20), pH circa 5.5;

b) da circa 1 mg/mL a circa 180 mg/mL dell'anticorpo anti-CD38 comprendente la VH di SEQ ID NO: 4 e la VL di SEQ ID NO: 5, da circa 50 U/ml a circa 5000 U/ml della ialuronidasi, da circa 5 mM a circa 50 mM di istidina e da circa 50 mM a circa 400 mM di sorbitolo, facoltativamente comprendente inoltre da circa 0.01% p/v a circa 0.1% p/v di PS-20 e/o da circa 0.1 mg/mL a circa 2.5 mg/mL di metionina; o

c) da circa 100 mg/mL a circa 120 mg/mL dell'anticorpo anti-CD38 comprendente la VH di SEQ ID NO: 4 e la VL di SEQ ID NO: 5, da circa 50 U/ml a circa 5000 U/ml della ialuronidasi, circa 10 mM di istidina e da circa

100 mM a circa 300 mM di sorbitolo, facoltativamente comprendente inoltre da circa 0.01% p/v a circa 0.04% p/v di PS-20 e/o da circa 1 mg/mL a circa 2 mg/mL di metionina.

17. Composizione farmaceutica per uso secondo qualunque delle rivendicazioni da 14 a 16:

a) in cui la ialuronidasi è rHuPH20 (SEQ ID NO: 22);

b) in cui il cancro è:

i) un tumore solido; o

ii) un tumore maligno ematologico CD38-positivo, facoltativamente in cui il tumore maligno ematologico CD38-positivo è un mieloma multiplo, un linfoma follicolare, un linfoma diffuso a grandi cellule B, un'amiloidosi da catene leggere, un linfoma non-Hodgkin, una leucemia linfoblastica acuta, un linfoma a cellule del mantello, una leucemia mieloide acuta o una leucemia linfocitica cronica, quale in cui il tumore maligno ematologico CD38-positivo è il mieloma multiplo;

c) somministrando inoltre un secondo agente terapeutico, ad esempio in cui il secondo agente terapeutico è un inibitore del proteasoma, un agente alchilante o un derivato di acido glutammico, o combinazioni degli stessi, quale in cui:

i) l'inibitore del proteasoma è bortezomib, carfilzomib o ixazomib;

ii) l'agente alchilante è busulfan, ciclofosfamida, bendamustina, clorambucile, carboplatino, cisplatino, temozolomide, melfalan, carmustina, lomustina, dacarbazina, oxaliplatino, ifosfamida, mecloretamina, tiotepa, trabectedina o streptozocina; e

iii) il derivato di acido glutammico è lenalidomide, talidomide o pomalidomide; e/o

d) somministrando inoltre un corticosteroide, facoltativamente in cui il corticosteroide è desametasone o prednisone, quale in cui il corticosteroide è desametasone.

18. Forma di dosaggio unitario, comprendente

a) un anticorpo anti-CD38 comprendente la VH di SEQ ID NO: 4 e la VL di SEQ ID NO: 5 in una quantità di circa 1800 mg;

b) una ialuronidasi in una quantità da circa 30000 U a circa 45000 U;

- c) istidina ad una concentrazione compresa tra circa 5 mM e circa 15 mM;
- d) sorbitolo ad una concentrazione compresa tra circa 100 mM e circa 300 mM;
- e) PS-20 ad una concentrazione compresa tra circa 0.01% p/v e circa 0.04% p/v; e
- f) metionina ad una concentrazione compresa tra circa 1 mg/mL e circa 2 mg/mL, ad un pH di circa 5.5;

facoltativamente in cui:

- i) istidina è presente ad una concentrazione di circa 10 mM;
- ii) sorbitolo è presente ad una concentrazione di circa 300 mM;
- iii) polisorbato è presente ad una concentrazione di circa 0.04% p/v;
- iv) metionina è presente ad una concentrazione di circa 1 mg/mL;
- v) comprendente saccarosio ad una concentrazione compresa tra circa 100 mM e circa 200 mM; e/o
- vi) la ialuronidasi è rHuPH20 (SEQ ID NO: 22).

19. Contenitore comprendente la forma di dosaggio unitario secondo la rivendicazione 18.

20. Composizione farmaceutica secondo qualunque delle rivendicazioni da 1 a 13, la composizione farmaceutica per uso secondo qualunque delle rivendicazioni da 14 a 17, la forma di dosaggio unitario secondo la rivendicazione 18, o il contenitore secondo la rivendicazione 19, in cui l'anticorpo anti-CD38:

- a) è del sottotipo IgG1/κ; e/o
- b) induce uccisione di cellule tumorali esprimenti CD38 mediante citotossicità cellulo-mediata anticorpo-dipendente (ADCC), fagocitosi cellulare anticorpo-dipendente (ADCP), citotossicità complemento-dipendente (CDC), apoptosi, o modulazione dell'attività enzimatica di CD38.

21. Composizione farmaceutica secondo qualunque delle rivendicazioni da 1 a 13, la composizione farmaceutica per uso secondo qualunque delle rivendicazioni da 14 a 17, la forma di dosaggio unitario secondo la rivendicazione 18, o il contenitore secondo la rivendicazione 19, in cui l'anticorpo anti-CD38 è daratumumab.